

Aus dem Pathologischen Institut
der Städtischen Kliniken Fulda
Chefarzt: Prof. Dr. med. R. Bässler

Die Tumormarker
Epitheliales-Membran-Antigen (EMA),
Thomsen-Friedenreich-Antigen (T-Ag) und
alpha-Lactalbumin (ALA) in der Diagnose und
Differentialdiagnose benigner und maligner
Erkrankungen der Mamma

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
dem Fachbereich vorgelegt von

Franz-Josef Schmitz
aus Dormagen/Rhein

Mainz/Fulda, 1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554219_0036

Aus dem Pathologischen Institut
der Städtischen Kliniken Fulda
Chefarzt: Prof. Dr. med. R. Bässler

Die Tumormarker
Epitheliales-Membran-Antigen (EMA),
Thomsen-Friedenreich-Antigen (T-Ag) und
alpha-Lactalbumin (ALA) in der Diagnose und
Differentialdiagnose benigner und maligner
Erkrankungen der Mamma

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
dem Fachbereich vorgelegt von

Franz-Josef Schmitz
aus Dormagen/Rhein

Mainz/Fulda, 1985

Dekan: Professor Dr. med. J. Michaelis

1. Gutachter: Professor Dr. med. R. Bässler

2. Gutachter: Professor Dr. med. W. Thoenes

Tag der Promotion: 9. April 1986

Meinen lieben Eltern

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
I. Einleitung	1
II.1 Untersuchungsgut	5
II.2 Zusammenstellung der immunhistochemisch bearbeiteten Operations- und Sektionspräparate	8
III. Immunhistochemische Untersuchungen - Voraussetzungen und Darstellung der antigenen Determinanten -	22
IV. Ergebnisse	
1. Mamma-Gewebe ohne pathologische Veränderungen	29
2. Benigne Erkrankungen	33
3. Maligne Tumoren und Metastasen	
3.1 Duktale und lobuläre Karzinome	
3.1.1 Nicht-invasives duktales Karzinom	38
3.1.2 Invasives duktales Karzinom	40
3.1.3 Carcinoma lobulare in situ	43
3.1.4 Invasives lobuläres Karzinom	44
3.1.5 Morbus Paget bei nicht-invasivem duktalem Karzinom	47
3.2 Karzinome mit spezieller Differenzierung	
3.2.1 Medulläres Karzinom mit lymphoidem Stroma	49
3.2.2 Tubuläres Karzinom	50
3.2.3 Sekretorisches Karzinom	51
3.2.4 Groß- und hellzelliges Karzinom	53
3.2.5 Siegelringzell-Karzinom	54
3.2.6 Karzinom mit ektopter HCG-Produktion	54
3.2.7 Malignes Adenomyoepitheliom	55
3.3 Karzinom-Metastasen	56
3.4 Okkulte Karzinome	60
V. Diskussion	65
VI. Zusammenfassung	73
VII. Literaturverzeichnis	75
VIII. Lebenslauf	85

I. EINLEITUNG

Die Immunhistochemie gilt heute als jüngster Zweig einer morphologisch ausgerichteten Biologie, die sich außerordentlich befruchtend auf die pathologische Forschung und Diagnostik ausgewirkt hat.

Schon 1941 wurde durch das revolutionäre Konzept von Albert H. COONS die Voraussetzung für die moderne Immunhistochemie entwickelt. Seine Idee war, die "spezifische Reaktivität" zwischen Antigen und Antikörper zur Darstellung von Gewebsdeterminanten zu nutzen. Durch die Kopplung spezifischer Antikörper mit fluoreszierenden Bestandteilen konnte ihre Reaktion mit den komplementären Antigenen im Gewebe sichtbar gemacht werden. Zunächst wurde der Markierungsstoff direkt an den Primärantikörper gekoppelt, später entwickelten COONS und seine Mitarbeiter die indirekte Methode, bei welcher der Fluoreszenzfarbstoff über einen zweiten Antikörper an den primär im Gewebe reagierenden Antikörper angebracht wird.

Paul K. NAKANE und seine Mitarbeiter (1966) konnten durch Ankopplung von Enzymen und enzymatischen Farbstoffnachweis der Antigen-Antikörper-Reaktion im Gewebe entscheidend die Sensitivität und die Spezifität der Methodik verbessern. Die Entwicklung der ungekoppelten Antikörper-Enzym-Brücken-Methode und der Peroxidase-Antiperoxidase-Technik durch Ludwig A. STERNBERGER (1969) und deren einfache Anwendung in weiten Bereichen von Biologie und diagnostischer Pathologie führte in eine neue Dimension histologischer und zellphysiologischer Erkenntnisse.

Die Immunhistochemie ist eine Technik zur Beschreibung strukturgebundener Stoffwechselvorgänge. Dieser Sachverhalt kann von der Biochemie nicht aufgedeckt werden. Untersuchungsobjekte des Biochemikers sind in der Regel nicht Scheiben eines weitgehend unverletzten Organs, sondern ein Homogenat desselben. Durch dessen Analyse kann aber nur der Mittelwert aller darin befindlichen Stoffe erfaßt werden, während die Strukturzugehörigkeit beispielsweise eines Proteins nicht ohne weitere, meist sehr aufwendige Trennverfahren erkennbar wird. Gleichgültig mit welcher Methode biologische Objekte untersucht werden, im Mittelpunkt steht immer das Ziel, die Chemie und die Struktur, also die "Topochemie", zu erkennen. Die Immunhistochemie erweitert deshalb nicht nur das Verständnis allgemeiner inter- und intrazellulärer Prozesse, sondern sie erlaubt auch eine Darstellung örtlich vorhandener Stoffwechselleistungen und erscheint deshalb geeignet zur Charakterisierung zellulärer Funktionsphasen wie auch von biologisch gutartigen und bösartigen Erkrankungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, durch konsequente Heranziehung von Tumormarkern einen anwendungsbezogenen Beitrag zur Differentialdiagnose benignen und malignen Erkrankungen der menschlichen Brustdrüse zu leisten. Dies erscheint um so notwendiger, da es zwar eine Fülle klinisch-biochemischer sowie morphologisch ausgerichteter Arbeiten gibt, die Verbindung von histologischer Differenzierung und immunhistochemischer Charakterisierung aber vielfach noch offen ist. Neben zahlreichen Publikationen zu diesen Fragen stützen wir uns auf die neueren zusammenfassenden Darstellungen der angewandten Immunhistochemie von POLAK und van NOORDEN (1983) sowie von DeLELLIS (1984).

Die Zahl der zur Verfügung stehenden Gewebemarker ist groß (Tabelle 1); durch Auswahl von Markern, welche an verschiedenen Stellen des Stoffwechselgefüges eingreifen, sollen möglichst unterschiedliche zelluläre Eigenschaften aufgedeckt werden.

Das Epitheliale-Membran-Antigen (EMA) ist ein Glycoprotein in epithelialen Zellmembranen. Es kann in vielen Hautanhangsgebilden nachgewiesen werden und dient in der modernen Tumordiagnostik wegen seiner ubiquitären Verbreitung zunehmend zur Diagnose von Karzinomen und deren Metastasen.

Für das Thomsen-Friedenreich-Antigen (T-Ag) wird angenommen, daß es als Intermediärprodukt einer durch Oestrogene und Gestagene modulierten Stoffwechselkette vorkommt. Seine molekulare Struktur ist bekannt.

Dem alpha-Lactalbumin (ALA) wird eine Bedeutung beim Sekretionsprozeß der Mamma zugeschrieben. Seine molekulare Struktur ist ebenso aufgeklärt wie seine Funktion als Untereinheit der Lactose-Synthetase.

Mit den drei genannten Markern sollen immunhistochemisch sowohl gutartige als auch bösartige Erkrankungen der Mamma analysiert werden. Dabei sollen folgende Aufgabenstellungen bearbeitet werden:

1. Wie verhalten sich die Gewebemarker in histologisch normal differenziertem Mamma-Gewebe und wie ändert sich ihre Verteilung bei gutartigen Erkrankungen?
2. Wie sind die Marker in unterschiedlich differenzierten malignen Tumoren verteilt? Lassen sich aus dem Verteilungsmuster weitergehende Aussagen zur Biologie der Tumoren machen? Wie verhalten sich die Marker in Metastasen?
3. Welchen Nutzen bringen die Tumormarker für die histopathologische Differentialdiagnostik?

Sämtliches Untersuchungsmaterial wurde gleichzeitig konventionell verarbeitet und nach seinem histologischen Erscheinungsbild beurteilt. Die klassische histologische Diagnose diente als Grundlage für eine Korrelation mit der weitergehenden immunhistochemischen Untersuchung.

Tabelle 1: Immunhistochemische Marker der Brustdrüse (Auswahl), modifiziert nach R. WALKER (1984)

MILCHPROTEINE	CASEIN LACTALBUMIN LACTOFERRIN
SEKRETIONSPRODUKTE	SECRETORY COMPONENT
MEMBRANBESTANDTEILE	EPITHELIALES-MEMBRAN-ANTIGEN (EMA)
ONCOFETALE ANTIGENE	CARCINO-EMBRYONALES-ANTIGEN (CEA) TISSUE-POLYPEPTIDE-ANTIGEN (TPA)
STRUKTURANTIGENE	CYTOKERATIN u.a.
MYOEPIHEL-ANTIGEN	ACTIN
"LECTIN-ÄQUIVALENT"	THOMSEN-FRIEDENREICH-ANTIGEN (T-Ag)
HORMONALE ANTIGENE	HUMAN-CHORIONIC-GLYCOPROTEIN (HCG) PREGNANCY-SPECIFIC-GLYCOPROTEIN (PS) HUMAN-PLACENTAL-LACTOGEN (HPL)

II.1 UNTERSUCHUNGSGUT

Zu den immunhistochemischen Untersuchungen wurden ausschließlich Gewebeproben herangezogen, welche dem Pathologischen Institut der Städtischen Kliniken Fulda in den Jahren 1984/85 zur histopathologischen Begutachtungen zugegangen waren.

Aus dem täglichen Einsendegut des Institutes wurden 66 Fälle untersucht. Es handelte sich hierbei vorwiegend um Biopsien, die operativ gewonnen wurden; eine Mastektomie war bei 24 Patientinnen durchgeführt worden. Weiterhin sind an 13 Gewebeeinsendungen, welche im Mamma-Register von auswärtigen Instituten zur diagnostischen Stellungnahme vorgelegt wurden, immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt worden, um eine Klärung des histomorphologischen Befundes herbeizuführen. Das Mamma-Register ist eine Einrichtung am Pathologischen Institut in Fulda, welche bei diagnostischen Zweifelsfällen der speziellen Mamma-Pathologie konsiliarische Hilfen gibt. Mamma-Gewebe aus dem Sektionsgut wurde von 11 Verstorbenen entnommen und analog dem bioptischen Material verarbeitet und untersucht.

Die untersuchten benignen und malignen Veränderungen im weiblichen Brustdrüsengewebe sind diagnostisch in Tabelle 2 aufgeführt.

Alle Gewebeproben wurden unter identischen Bedingungen konventionell fixiert, eingebettet, geschnitten und entparaffiniert. Die gesamte Vorbehandlung des Materials wurde standardisiert, um optimale Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten. Der Arbeitsvorgang ist in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Diesem Kapitel der Arbeit ist eine kasuistische Zusammenstellung der immunhistochemisch bearbeiteten Fälle angefügt.

Tabelle 2: Zusammenstellung des Untersuchungsgutes
unter diagnostischen Kriterien

1. Mamma-Gewebe ohne pathologische Veränderungen	n=12
2. Benigne Erkrankungen	n=19
2.1 Sekretionsstörungen	n=5
2.2 Mastopathie, juvenile Papillomatose	n=10
2.3 Fibroadenom	n=4
3. Maligne Tumoren und Metastasen	n=64
3.1 <u>Duktales und lobuläre Karzinome</u>	
3.1.1 Nicht-invasives duktales Karzinom	n=4
3.1.2 Invasives duktales Karzinom	n=12
3.1.3 Carcinoma lobulare in situ	n=5
3.1.4 Invasives lobuläres Karzinom	n=11
3.1.5 Morbus Paget	n=1
3.2 <u>Karzinome mit spezieller Differenzierung</u>	
3.2.1 Medulläres Karzinom mit lymphoidem Stroma	n=7
3.2.2 Tubuläres Karzinom	n=1
3.2.3 Sekretorisches Karzinom	n=1
3.2.4 Groß- und hellzelliges duktales Karzinom	n=1
3.2.5 Siegelringzell-Karzinom	n=1
3.2.6 Karzinom mit ektopter HCG-Produktion	n=1
3.2.7 Malignes Adenomyoepitheliom	n=1
3.3 Karzinom-Metastasen	n=14
3.4 Okkulte Karzinome	n=4

Gesamtzahl n=95

Tabelle 3: Vorbehandlung des Gewebes für die
immunhistochemische Färbung

1. Fixierung des biologischen Materials in 10% Formalin über 16 Stunden
2. Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe
(je 1 Stunde 50%, 1 Std. 70%, 2x1 Std. 96%,
3x1 Std. 100% Alkohol)
2. 2x2,5 Std. in R-Histol-Bad
4. Einbettung in Paraffin bei 65°C über 4 Stunden
5. Schneiden am Mikrotom, danach werden die Schnitte
ohne Verwendung von Adhaesivstoffen auf Objekt-
träger aufgezogen
6. Nach dem Antrocknen werden die Objektträger für
30 Minuten bei 56°C in den Wärmeschrank gestellt
7. Unmittelbar im Anschluß daran werden die erwärm-
ten Präparate über eine absteigende Alkoholreihe
entparaffiniert
(2x4 Minuten Xylol-Bad, 2x3 Minuten in 100% Alko-
hol, 2x3 Minuten in 96% Alkohol)
8. Zum Abschluß des Entparaffinierungsvorganges wer-
den die Objektträger für 30 Sekunden in ein Wasser-
bad ein- und ausgetaucht, bis der Restalkohol von
den Objektträgern entfernt ist

II.2 ZUSAMMENSTELLUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCH
BEARBEITETEN OPERATIONS- und SEKTIONS-
PRÄPARATE

- MR 146/84 axilläre Lymphknotenmetastase eines klinisch okkulten Karzinoms. Primärtumor:
*1926 Komedo-Karzinom mit zum Teil papillärem Wachstum
Primärtumor und Metastasen, insgesamt
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 155/84 axilläre Lymphknotenmetastase eines intraduktalen Mamma-Karzinoms vom Typ eines wenig differenzierten Komedo-Karzinoms
*1911
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 159/84 sekretorisches (juveniles) Karzinom der Mamma in Gravidität (mens IX)
*1961
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 170/84 malignes Adenomyoepitheliom der Mamma
*1931
je 6X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 180/84 invasives duktales, teils intraduktal wachsendes, wenig differenziertes Karzinom
* ?
der Mamma mit einem medullären Anteil und starker lymphangischer Karzinose
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 182/84 tubulär differenziertes und schleimbildendes Adenokarzinom (DD: entdifferenziertes adenoid-cystisches Karzinom?)
*1907
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 190/84 juvenile Papillomatose der Mamma
*1964
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 218/84 infiltrierend-lobuläres Karzinom, maligner klein-polymorphzelliger Tumor der Mamma
*1936
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- MR 234/84 axilläre Lymphknotenmetastase eines
*1936 invasiven duktales Karzinoms vom Typ
eines soliden und szirrhösen Karzinoms
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 3/85 invasives duktulo-lobulär differenzier-
*1952 tes Karzinom bei Gravidität und Hyper-
plasie sowie Sekretion zahlreicher Drü-
senläppchen
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 8/85 herdförmige Ausbildung eines lobulär-
*1932 invasiven Karzinoms bei nodulär-skler-
osierender Adenose
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 19/85 axilläre Lymphknotenmetastase eines so-
*1932 liden, infiltrierend wachsenden Karzi-
noms, sehr wahrscheinlich Mamma-Karzinom
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 36/85 Carcinoma lobulare in situ und inva-
*1934 sives lobuläres Karzinom. Metaplastische
Karzinose mit teilweise chondroider
Differenzierung und mukoider Stromaver-
quellung, noduläre und tumorförmig skler-
osierende Adenose
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 79/85 invasives (kleinzelliges) Karzinom der
*1910 Mamma
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 88/85 Karzinom mit ektopter HCG-Produktion
* ? je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 135/85 axilläre Lymphknotenmetastasen eines
*1926 hellzelligen soliden Karzinoms mit ade-
noiden Formationen und teilweise zentra-
len Nekrosezylindern
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- MR 173/85 plurifokales invasives lobuläres Karzinom
mit einem CLIS
*1933 EMA mit Neg. K.

- J Nr 53/84 invasives duktales Karzinom der
*1947 rechten Mamma vom Typ eines ge-
ring differenzierten soliden Kar-
zinoms mit lymphatischer Stromare-
aktion (hinsichtlich der geringen
Tumorzelldifferenzierung und lym-
phatischen Stromareaktion besteht
eine gewisse Ähnlichkeit zu einem
medullären Karzinom Typ III)
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 77/84 ausgedehntes und sehr unscharf be-
*1935 grenztes invasives lobuläres Karzi-
nom mit lokal perivenöser und lym-
phangischer Karzinose
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 155/84 invasives duktales Karzinom vom Typ
*1935 eines Carcinoma solidum mit geringer
lymphatischer Stromareaktion in der
Tumorperipherie
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 298/84 voluminöse Resektate beider Mammae
-299/84 mit Stromafibrose und unterschied-
*1959 licher lobulärer Ausdifferenzierung
des Drüsengewebes; das Bild entspricht
einer sog. virginellen Makromastie
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 716/84 invasives duktales Karzinom vom Typ
*1939 eines soliden und adenoiden Karzinoms,
solitäres Carcinoma lobulare in situ
des anhaftenden Brustdrüsengewebes,
einhergehend mit lokaler ungewöhnlicher
Myoepithelproliferation
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 2354/84 knotige Metastase eines invasiven duk-
*1933 talen Karzinoms von Überwiegend solidem
Aufbau in der Haut im Bereich des Narben-
gebietes der rechten Brustseite
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- J Nr 2790/84 Überwiegend intrakanalikulär differen-
 *1939 ziertes Fibroadenom umgeben von einem
 altersentsprechend differenzierten Par-
 enchym sowie Fettgewebe
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 2902/84 invasives duktales Karzinom vom Typ ei-
 *1934 nes adenoiden Karzinoms mit örtlich dif-
 fus infiltrierendem Wachstum und lymph-
 angischer Karzinose
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 4065/84 Excisate eines überwiegend altersgemäß
 -4067/84 lobulär differenzierten Brustdrüsengewe-
 *1951 bes aus dem oberen äußeren Quadranten der
 linken Mamma; die nur örtlich nachweis-
 bare periduktale Fibrose könnte palpa-
 torisch einen Tumor vorgetäuscht haben
 je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 6678/84 solides und medulläres Karzinom Typ III
 *1938 je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 7113/84 lobuläre Hyperplasie und geringe unvoll-
 *1940 ständige sog. lobuläre Sekretion
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 7474/84 solitäre Metastase eines soliden Mamma-
 *1933 Karzinoms aus einem Lymphknoten Level I
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 7662/84 Fibrosis mammae
 *1954 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 8806/84 Biopsie der linken Mamma mit einem intra-
 *1955 kanalikulär differenzierten Fibroadenom
 EMA, T-Ag
- J Nr 9346/84 Mazoplasie
 *1957 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- J Nr 9403/84 Mastopathia cystica fibrosa mit
*1910 Gangektasien, Sekretretention und
herdförmiger sekretorischer Aktivi-
tät, intraduktale Papillomatose und
Adenose, teilweise in Verbindung mit
kleinen sog. radiären Narben
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 9806/84 altersentsprechend differenziertes lo-
*1959 buläres Parenchym
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 9958/84 stark infiltrierend wachsendes lobulä-
*1934 res Karzinom
EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 10612/84 intrakanalikulär differenziertes Fibro-
*1961 adenom ohne Hinweis auf Malignität
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 11077/84 intrakanalikulär differenziertes Fibro-
*1960 adenom
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 11085/84 intraduktales Karzinom mit ungewöhnlich
*1937 ausgeprägter sekundärer lobulärer Karzi-
nose, prädominierende intraduktale Tumor-
komponente mit örtlicher sekundärer Kar-
zinose
je 2X EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 12852/84 invasives großzelliges und teils hellzell-
-12853/84 iges Karzinom, ungewöhnlich ausgeprägte
*1936 lymphangische Karzinose; teils knotige,
teils diffuse und insbesondere lymphang-
ische Karzinose des gesamten Drüsenkörpers,
diffuses, überwiegend großzelliges Karzinom
je 3X EMA, T-Ag mit Neg. K.
zugehörige Lymphknoten
EMA mit Neg. K.

- J Nr 14007/84 Excisate der linken Mamma mit segmentaler proliferierender Papillomatose in der Umgebung einer kleinen radiären Narbe; diese Papillomatose geht mit mittelgradigen Dysplasien einher, zeigt aber keine Übergänge zu einem intraduktalen papillären Karzinom, Insbesondere finden sich keine Übergänge zu einem invasiven Wachstum.
*1944 2X EMA mit Neg. K.
- J Nr 14167/84 fettgewebsreiches Excisat der linken Mamma mit plurifokaler sog. lobulärer Sekretion des Drüsenkörpers
*1933 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 15688/84 Fibrosis mammae und geringgradige sklerosierende Adenose des oberen äußeren Quadranten der rechten Mamma
*1949 2X EMA mit Neg. K.
- J Nr 15832/84 invasives duktales Karzinom (zentral gering sklerotisch, solide, örtlich lymphangische Karzinose, geringe lymphatische Randreaktion), riesenzellige Granulome, in der Tumorperipherie lipomatöse Hypertrophie, lokale Mastopathia cystica fibrosa mit geringer Epithelproliferation und herdförmig sklerosierender Adenose
15933/84 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
*1942 zugehörige Lymphknoten
 je 2X EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 15925/84 invasives lobuläres Karzinom in Form eines zentral sklerotisch und schlecht begrenzten über zwei Zentimeter großen Tumors
*1933 EMA, T-Ag mit Neg. K.

- J Nr 18676/84 zirkumskriptes duktales teils medullär differenziertes Karzinom der
*1898 Mamma mit unterschiedlich stark ausgebildeten entzündlichen Stromareaktionen, Fibrolipomatose des angrenzenden Drüsenkörperanteils mit stark ausgeprägten Gangektasien.
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18678/84 invasives duktales Karzinom der rechten Mamma vom Typ eines medullären Karzinoms mit lymphoidem Stroma
*1932 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18775/84 Carcinoma lobulare in situ mit Ausbildung eines knotigen invasiven Karzinoms mit starker Disseminationsneigung unter
-18777/84 Entwicklung multizentrischer invasiver Herde; daneben Zeichen einer leichtgradigen Mastopathie mit Gangektasien
*1931 je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- 19045/84 zugehörige Lymphknoten
2X EMA, 1X T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 19255/84 medulläres, z. T. zirkumskriptes Karzinom der linken Mamma mit umfangreichen Nekrosen, jedoch ohne Ausbildung einer stärkeren lymphoiden Matrix
*1946 Klassifikation: Typ III der medullären Karzinome
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- 19267/84 zugehörige Lymphknoten
je 2X EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 19572/84 Beckenstanze mit Anteilen einer osteoklastischen Metastase eines Adenokarzinoms, wahrscheinlich Mamma-Karzinom
*1930 EMA, ALA mit Neg. K.

- J Nr 19900/84 zirkumskriptes medulläres Karzinom
*1933 der Mamma mit unvollständiger kapsulärer Umhüllung sowie kontinuierlichem Einwachsen in die anhaftende Muskulatur des M. pectoralis, randlich Zeichen einer cystischen Mastopathie
Klassifikation: Typ II der medullären Karzinome
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 20490/84 invasives duktales Karzinom der linken
*1924 Mamma mit örtlicher intraduktaler Komponente eines Komedo-Karzinoms
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 20827/84 peri- und intrakanalikulär differenzierte Fibroadenome beider Mammae;
*1957 herdförmige lobuläre Hyperplasie des umgebenden Brustdrüsengewebes
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 21032/84 axilläres Fettgewebe mit Einschluß
*1906 eines Lymphknotens und Zeichen einer unspezifischen Lymphadenitis sowie mit einer lipomatösen Atrophie. Makrometastasen der Axilla eines weitgehend nekrotischen medullären Karzinoms der Mamma mit Ausbildung eines lymphoiden Stromas, kontinuierliches Einwachsen des Tumors in das angrenzende Fettgewebe
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 22361/84 Amputationspräparat der linken Mamma
*1941 mit Blutungen und Fettgewebsnekrosen in der Umgebung einer 3 cm großen Excisionshöhle; gering proliferierende kleincystisch-fibröse Mastopathie mit Mikrokalzifikationen und Sekretretention
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- J Nr 23346/84 invasives duktales Karzinom
 *1940 zentral sklerosiertes und adenoides
 Karzinom mit intraduktaler kribrifor-
 mer Tumorkomponente
 je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
 23417/84 zugehörige Lymphknoten
 EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 24761/84 axilläres Fettgewebe mit 15 einge-
 *1912 schlossenen Lymphknoten mit unspezi-
 fischem Sinuskatarrh und interstiti-
 eller Lipomatose derselben
 4X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 25146/84 Lymphknoten aus dem axillären Fett-
 *1937 gewebe bei invasivem intraduktalen
 Karzinom mit ausgeprägter intraduk-
 taler Tumorkomponente und örtlicher
 sekundärer Karzinose
 EMA, T-Ag mit Neg. K.
- J Nr 28612/84 Mamma-PE rechter oberer äußerer Qua-
 *1960 drant bei Mastodymie, lobulär differ-
 enziertes Drüsenparenchym mit örtlichen
 Gangektasien, ein mastopathischer Umbau
 stellt sich am vorliegenden Material nicht
 dar, insbesondere findet sich kein Anhalt
 für einen malignen Tumor
 je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 30946/84 regulär differenziertes lobuläres Par-
 *1947 enchym
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- J Nr 15536/85 kleinknotiges Lokalrezidiv eines
*1914 Mamma-Karzinoms in der subkutanen
Fettgewebsschicht der linken Brust-
wand
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 16185/85 plurifokales Carcinoma lobulare in
*1941 situ, atypische lobuläre Hyperpla-
sie, Mastopathia cystica fibrosa,
radiäre Narbe, intraduktales Papillom,
fibroadenomatöse Hyperplasien
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18074/85 lipomatöse Atrophie, plurifokales
*1906 z. T. intraduktiläres Carcinoma lo-
bulare in situ
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18460/85 plurifokale atypische und duktü-
*1950 läre Hyperplasie mit Übergang in
ein lobuläres, teils duktuläres
Carcinoma in situ
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18900/85 invasives lobuläres Karzinom (szirr-
*1934 höes); Mastopathia cystica fibrosa,
atypische intraduktiläre Epithelpro-
liferationen
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18901/85 plurifokales Carcinoma lobulare in
*1931 situ
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18903/85 zirkumskriptes medulläres Karzinom,
*1954 partiell lymphoides Stroma, zentral
ausgedehnte Nekrosen, daneben klein-
cystische Mastopathie
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- J Nr 19865/85 infiltrierend wachsendes intra-
*1920 duktales Karzinom vom Typ eines Ko-
 medokarzinoms mit herdförmigen Kal-
 zifikationen; lymphatisches Stroma
 im Bereich peripherer Ausläufer
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 19398/85 invasives duktales Karzinom der rech-
-19400/85 ten Mamma vom Typ eines adenomatösen
*1940 und teilweise szirrhösen Tumors
 je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 19155/85 intraduktales Karzinom der Mamma, wel-
*1927 ches z. T. stark infiltrierend gewachsen
 ist und daher das Bild eines invasiven
 duktales Karzinoms erzeugt hat; Residuen
 eines intraduktales Karzinoms vom Kome-
 dotyp mit ausgedehnten Nekrosen und Kal-
 zifikationen im Drüsenkörper
 stark entwickelter Morbus Paget der Mamille
 je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 20350/85 ausgedehntes plurifokales, invasives
*1947 lobuläres Karzinom der linken Mamma mit
 begleitenden Anteilen eines ebenfalls
 plurifokalen Carcinoma lobulare in situ
 und mit örtlicher lymphangischer Kar-
 zinose
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- J Nr 18674/84 altersentsprechend differenziertes Par-
 enchym mit herdförmigen leichtgradigen
 Veränderungen einer Mastopathie und
 Gangektasien
 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- S Nr 160/84 normale Mamma-Histologie (Nieren-
*1921 versagen und Koma nach OP einer in-
karzerierten Femoralhernie mit Re-
laparatomie, intraoperativer Blut-
druckabfall, haemorrhagische Diathese)
3X ALA mit Neg. K.
- S Nr 177/84 normale Mamma-Histologie (Lungentu-
*1903 berkulose im linken Oberfeld, Herz-
insuffizienz, Vorhofflimmern bei
arteriellen Embolien)
2X T-Ag
- S Nr 179/84 normale Mamma-Histologie (Chole-
*1912 cysto- und Choledocholithiasis,
Hyperkalzaemie unklarer Genese,
Diabetes mellitus, Anaemie)
2X EMA mit Neg. K.
- S Nr 200/84 geringgradige Atrophie der Mamma
*1939 (protrahiertes Rechtsherzversagen
bei Cor pulmonale chronicum infolge
einer chronisch-obstruktiven Atem-
wegserkrankung mit zunehmender re-
striktiver Komponente)
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- S Nr 215/84 Adenose der Mamma (Herz- und Kreis-
*1966 laufstillstand nach Kammerflimmern bei
V. a. Myokardinfarkt, insulinpflichtiger
Diabetes mellitus seit dem 15. Lebens-
jahr)
EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- S Nr 243/84 normale Mamma-Histologie
*1932 EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- S Nr 269/84 mamma lactans (Z. n. Polytrauma mit
*1955 vorderer Beckenringfraktur)
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

- S Nr 281/84 normale Mamma-Histologie (Orni-
those mit mehrwöchiger Beatmung,
*1962 status post abortum)
je 3X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- S Nr 286/84 Mamma-Gewebe 2-4 Wochen nach Inter-
ruptio (Leberfibrose mit örtlicher
*1960 Zirrhose, Oesophagus- und Magenfun-
dusvarizenblutung)
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
- S Nr 156/85 invasives duktales Mamma-Karzinom,
Metastasen in Pleura, Knochen und
*1926 Leber
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.
Leber-, Knochen und Pleurametastasen
je 2X EMA, T-Ag, ALA mit Neg. K.

III. IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

Voraussetzungen und Darstellung der antigenen Determinanten-

Zum Nachweis der antigenen Strukturen von Epitheliale-Membran-Antigen (EMA), Thomsen-Friedenreich-Antigen (T-Ag) und alpha-Lactalbumin (ALA) im Gewebe dienten Antikörper, welche kommerziell von DAKOPATTS erworben wurden. Die Darstellung von EMA und T-Ag im Gewebe erfolgte über eine indirekte Immunperoxidase-Technik, zum Nachweis des alpha-Lactalbumin wurde die Peroxidase-Antiperoxidase-Technik gewählt.

Der monoklonale Antikörper gegen Epitheliales-Membran-Antigen (DAKO EMA A613) wird durch Injektion von hochgereinigtem humanen globulären Milch-Fett aus Epithelzell-Membranen in Mäuse gewonnen. Die immunstimulierten B-Lymphocyten werden aus der Milz des Tieres isoliert und mittels der Hybridom-Technik mit Myelom-Tumorzellen fusioniert. Die dabei entstehenden Hybridom-Zellen können in der Kultur wachsen und den Antikörper gegen das Epitheliale-Membran-Antigen produzieren. Da die Zellen aus einer einzigen Stammzelle abstammen, ist auch der gebildete Antikörper mono-klonal. Aus dem Überstand der Zellkultur (supernatant fluid) wird der Antikörper isoliert; er gehört einer einheitlichen Immunglobulinklasse an und ist nur spezifisch gegen eine einzige antigene Determinante gerichtet. Die antigene Determinante ist ein hochmolekulares Kohlenhydrat; so reagiert der Antikörper mit Glycoproteinen epithelialer Zellwände. Der kommerzielle Antikörper DAKO EMA A613 ist ein Antikörper der Klasse IgG 2.

Auch der Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen (DAKO T-Ag A584) ist monoklonal und wird nach Immunisierung in Mäusen hergestellt. Als Immunogen dient hier ein synthetisches Saccharid (β -D-Gal(1-3) α -D-Gal-NAc). Wie bei der Herstellung des anti-EMA werden die immunkompetenten B-Lymphocyten aus der Milz isoliert und mit Myelom-Zellen in der Kultur fusioniert. Die dabei entstehenden Hybride, welche sich weiter teilen und den Antikörper gegen das T-Antigen synthetisieren können, werden den Tieren reinjiziert. In den Mäusen teilen sich die Zellen weiter und wachsen so zu einem Tumor. Aus dem Ascites können die produzierten spezifischen Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen isoliert werden. Der monoklonale Antikörper gegen das Thomsen-Friedenreich-Antigen ist hoch spezifisch gegen den Epitop (β -D-Gal(1-3) α -D-Gal-NAc) gerichtet; DAKO T-Ag A584 gehört der Immunglobulinklasse IgM an.

Die Reaktion der monoklonalen Antikörper gegen das Epitheliale-Membran-Antigen und das Thomsen-Friedenreich-Antigen mit den antigenen Determinanten im Gewebe wird durch eine indirekte Immunperoxidase-Technik sichtbar gemacht. Dies geschieht über Peroxidase-gekoppelte Antikörper gegen die spezifischen monoklonalen Antikörper: Zunächst muß dazu die endogene, im Gewebe vorhandene Peroxidase blockiert werden. Nach Inkubation mit unspezifischem normalen Schweineserum um antigene Strukturen im Gewebe abzusättigen und somit eine unspezifische Hintergrundfärbung zu verringern, werden die Schnitte mit dem spezifischen Antikörper gegen EMA oder T-Ag inkubiert. Der entstandene Immunkomplex aus Gewebe-Determinante und spezifischem Maus-Antikörper wird durch

**Tabelle 4: Darstellung der antigenen Determinanten
EMA und T-Ag über die indirekte Immun-
peroxidase-Technik**

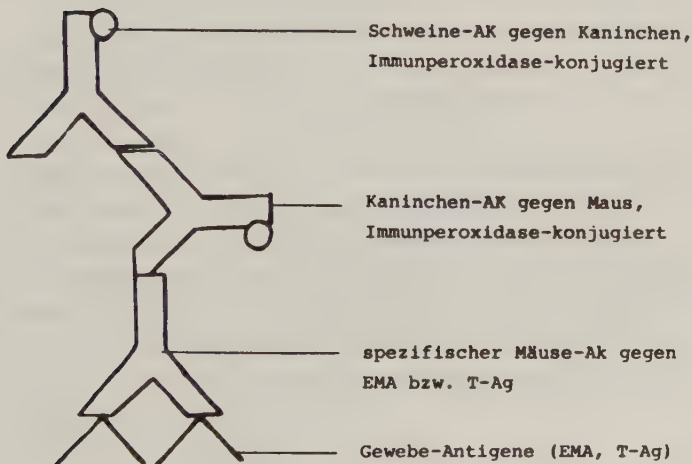
1. Inkubation der Schnitte mit 3% H_2O_2 über 5 Minuten, um die endogene Gewebssperoxidase zu blockieren, anschließend Spülen mit Aqua dest.
2. 5 Minuten Bad in PBS-Puffer pH 7,6
3. Inkubation mit normalem Schweineserum über 20 Minuten
4. Danach sorgfältiges Abtupfen der Objektträger, um überschüssiges Schweineserum zu entfernen, Inkubation mit spezifischem Antiserum gegen EMA oder T-Ag über 16 Stunden bei 4°C in feuchter Kammer
Verdünnung der gelieferten Antisera: EMA 1:40
T-Ag 1:30,
während die Negativ-Kontrollen mit PBS-Puffer überschichtet werden
5. Nach 16 Stunden werden die Schnitte aus dem Kühlraum geholt und 20 Minuten lang in ein raumwarmes PBS-Pufferbad gestellt,
6. sodann Inkubation mit Peroxidase-konjugiertem Kaninchenserum gegen Maus-Immunglobuline über 20 Minuten.
7. Schnitte für 20 Minuten in PBS-Pufferbad stellen,
8. hiernach werden die Schnitte 20 Minuten lang mit Peroxidase-konjugiertem Schweineserum gegen Kaninchen-Immunglobulin inkubiert,
9. dann wieder 20 Minuten lang PBS-Pufferbad.
10. Zum Schluß des immunhistochemischen Färbevorganges werden die Präparate 40 Minuten lang mit dem Chromogen Diamino-Benzidin überschichtet.
11. Danach ist der Färbevorgang beendet; Schnitte in Aqua dest. eintauchen, sorgfältig abtropfen lassen und 3-5 Minuten mit MEYER'S HAEMALAUN gegenfärben.
12. Schnitte in Aqua dest. eintauchen, dann kurz in Leitungswasser eintauchen, mit KAISER'S GLYCERIN-GELATINE eindecken.

Inkubation mit Peroxidase-konjugiertem Kaninchen-serum gegen Mäuseantigen und nachfolgender Inku-bation mit ebenfalls Peroxidase-konjugiertem Schweineantiserum gegen Kaninchenantigen sicht-bar gemacht. Mit dem Farbstoff Diaminobenzidin (DAB) reagieren die Peroxidase-Immunkomplexe und geben eine braune Farbe, so daß eine exakte Loka-lisation im Gewebeschnitt möglich ist. Das Vor-gehen ist in Tabelle 4 im einzelnen beschrieben.

Sämtliche Reagentien wurden vor der Anwendung auf Raumtemperatur gebracht, auch der PBS-Puffer. Die Substanzen sind alle einzeln erhältlich, hier wurde das DAKO-Universal Immunperoxidase Kit for Use with Mouse Antibody K660 verwendet.

Eine schematische Wiedergabe der einzelnen Reakti-onsschritte bei der indirekten Immunperoxidase-Technik ist unten abgebildet.

Abbildung 1: Schema zur indirekten Immunperoxidase-Technik



Der verwendete Antikörper gegen das alpha-Lactalbumin (DAKO ALA A579) ist polyklonal. Durch Ionenaustausch- und Gel-Chromatographie hochgereinigtes menschliches alpha-Lactalbumin dient als Immunogen. Die Substanz wurde Kaninchen injiziert, welche den Antikörper bilden; der Antikörper reagiert nach Herstellerangaben spezifisch mit alpha-Lactalbumin, eine Kreuzreaktion mit Serum-Proteinen ist nicht vorhanden.

Zur Darstellung des alpha-Lactalbumins im Gewebe wurde die Peroxidase-Antiperoxidase-Methode gewählt. Das Prinzip der Methode läßt sich folgendermaßen beschreiben: Zunächst wird die endogene, im Gewebe vorhandene Peroxidase mit H_2O_2 gehemmt. Danach werden die Schnitte mit einem unspezifischen Schweineserum inkubiert, um eventuelle unspezifische Bindungen an Gewebeproteine auszuschließen. Sodann erfolgt Inkubation mit dem spezifischen Kaninchen-Antikörper gegen menschliches alpha-Lactalbumin. Um den Immunkomplex aus Gewebe-alpha-Lactalbumin und Kaninchenantikörper nachzuweisen, werden die Schnitte danach mit einem Brückenantikörper (linking-antibody), der aus Schweineserum ist und spezifisch mit Kaninchenantigenen reagiert, inkubiert. Der Brückenantikörper wird im Überschuß zugegeben, funktionell reagiert nur ein Schenkel des F_{ab} -Fragmentes, die andere leichte Kette des Immunglobulins bleibt frei und kann in einem nächsten Reaktionsschritt mit dem PAP-Komplex reagieren. Der PAP-Komplex besteht aus Peroxidase-gebundenen Kaninchenantikörpern, die mit dem freien Schenkel (F_{ab} = Fragment, welches Antigen bindet) des Schweine-Brückenantikörpers reagieren. Nach Zugabe des Chromogens DAB nimmt der gesamte Immunkomplex eine rotbraune Farbe an, so daß seine Lokalisation im Gewebe möglich wird.

Tabelle 5: Darstellung der antigenen Determinante
alpha-Lactalbumin durch die Peroxidase-
Antiperoxidase-Methode

1. Die Schnitte werden über 5 Minuten mit 3% H_2O_2 überschichtet, um die endogene Gewebe-Peroxidase abzublocken, anschließend Spülen in Aqua dest.
2. PBS-Pufferbad pH 7.6 über 5 Minuten
3. Inkubation mit normalem Schweineserum über 20 Minuten,
4. danach sorgfältiges Abtupfen der Objektträger, um überschüssiges Serum zu entfernen, Inkubation mit spezifischem Antiserum gegen alpha-Lactalbumin über 16 Stunden bei 4°C in feuchter Kammer.

Verdünnung des gelieferten Antiserums gegen alpha-Lactalbumin 1:100,

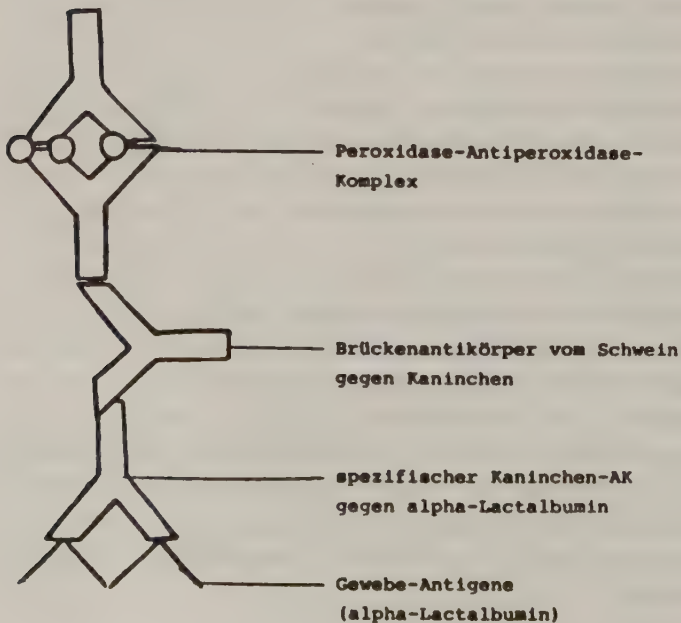
die Negativ-Kontrollen werden mit PBS-Puffer überschichtet.

5. Nach 16 Stunden werden die Schnitte aus dem Kühlraum geholt und 20 Minuten lang in ein raumwarmes PBS-Pufferbad gestellt,
6. sodann Inkubation mit dem Brücken-Antikörper (linking antibody) vom Schwein, der mit dem im Gewebe gebundenen Kaninchenantigen reagiert.
7. 20 Minuten PBS-Pufferbad.
8. Inkubation mit dem PAP-Komplex, der mit dem Brückenantikörper reagiert,
9. danach wieder 20 Minuten PBS-Pufferbad.
10. Zum Schluß des immunhistochemischen Färbevorganges werden die Präparate 40 Minuten lang mit dem Chromogen Diamino-Benzidin überschichtet;
11. danach ist der Färbevorgang beendet; Schnitte in Aqua dest. eintauchen, sorgfältig abtropfen lassen und 3-5 Minuten in MEYER'S HAEMALAUN gegenfärben.
12. Schnitte in Aqua dest. eintauchen, dann kurz in Leitungswasser, mit KAISER'S GLYCERINELATINE eindecken.

Die einzelnen Reaktionsschritte der Peroxidase-Antiperoxidase-Technik sind in Tabelle 5 wiedergegeben. Sämtliche Vorgänge, wo nicht anders angegeben, erfolgen bei Raumtemperatur. Die Substanzen sind alle einzeln im Handel, hier wurde Universal DAKO PAP KIT TM-Rabbit K548 verwendet. Eine schematische Übersicht über die PAP-Methode ist unten wiedergegeben.

Von allen Schnitten wurden Negativ-Kontrollen hergestellt, welche zum Nachweis einer eventuell im Gewebe vorhandenen unspezifischen Bindung dienen. Die Negativ-Kontrollen wurden analog den immunhistochemischen Schnitten behandelt, anstelle des spezifischen Antikörpers wurden sie mit PBS-Puffer inkubiert.

Abbildung 2: Darstellung von alpha-Lactalbumin durch die Peroxidase-Antiperoxidase-Technik



IV. ERGEBNISSE

IV.1 Mamma-Gewebe ohne pathologische Veränderungen

Im regulär differenzierten lobulären Drüsengewebe (s. Abb. 3) ergibt sich eine deutliche Darstellung des EMA. Der Farbstoff lagert sich am apikalen Zellpol der dukталen Epithelien ab, wobei die Reaktion in den größeren Gängen kräftiger ausfällt. Die Intensität nimmt zu den Lobuli hin ab, in den peripheren Gangsegmenten ist nur noch ein schmaler apikaler Randsaum positiv; die Azini reagieren nicht. Während der Gravidität, wo es zu einer Proliferation des Organes mit Läppchenzunahme kommt, ist das EMA ebenfalls lediglich im Gangsystem nachweisbar, in den noch eng zusammenliegenden Azini läßt sich das EMA nicht feststellen. Dies ändert sich, wenn mit Beginn der Laktation die Azini in Alveolen umgewandelt werden: Die abgeflachten Zellen der stark erweiterten und sekretgestauten Alveolen reagieren mit ihrem gesamten Cytoplasma positiv. Das EMA läßt sich bis in das hohe Alter am gesamten Gangsystem der Brustdrüse nachweisen.

Mit dem T-Ag ist eine sehr diskrete Anfärbung vor allem der peripheren Gangsegmente am duktulo-lobulären Übergang möglich. Die regulären zweireihigen Drüsenepithelien reagieren jeweils mit ihrem apikal gelegenen Cytoplasmasaum; in den Lobuli reagieren die Azinuszellen mit einem diffusen feinkörnigen cytoplasmatischen Muster. In der proliferierenden Mamma der Schwangerschaft sind sowohl die kleinen Gänge als auch die eng zusammenliegenden Azini positiv für das T-Ag. Während der Stillperiode läßt sich das T-Ag nicht in den erweiterten Drüsenalveolen nachweisen.

Das T-Ag ist auch am atrophischen Organ im Senium als apikale cytoplasmatische Randreaktion der Drüsengänge vorhanden.

Das Glycoprotein ALA ist im normal funktionsfähigen Mamma-Gewebe nicht regelmäßig nachweisbar: Positiv ist zumeist das Cytoplasma der luminalen Zellreihen, oft ist aber auch eine stärkere Konzentration des Farbproduktes am apikalen Cytoplasmapol zu erkennen. Man sieht, wie sich positiv reagierendes Sekret abschnürt und in das Ganglumen sezerniert wird. Die azinären Zellen reagieren nur schwach mit einem feingranulären Muster, dies ist auch in der Gravidität der Fall. Mit zunehmender Schwangerschaftsdauer kommt es allerdings zu einer kräftigen Reaktion der kleinen und großen Gänge bei reichlich anfärbbarem intraluminären Sekret. Dabei fällt auf, daß nach peripher die luminalen Zellen zusehends mit ihrem gesamten Cytoplasma reagieren im Gegensatz zu den großen Gangsegmenten, wo nur eine apikale Anreicherung zu beschreiben ist.

Zu einer intensiven Reaktion (s. Abb. 4) der erweiterten Drüsenalveolen kommt es bei der laktierenden Brustdrüse. Die alveolären Zellen reagieren mit ihrem gesamten Cytoplasma, während in den Gangsegmenten ein vorwiegend apikaler Reaktionsmodus vorhanden ist, wobei das sich abschnürende Sekret mitgefärbt wird.

In Untersuchungsmaterial, welches in der Post-Menopause entnommen worden war, konnte mit unseren Methoden kein alpha-Lactalbumin erkannt werden.

Am Untersuchungsmaterial des normalen Drüsenparenchyms der Mamma ergibt sich für die drei Gewebemarker folgendes Verteilungsmuster:

Das EMA ist als Anreicherung am apikalen Zellpol im epithelialen lumennahen Gewebe des gesamten Gangsystems vorhanden, in den Lobuli ist EMA normalerweise nicht nachweisbar.

Für das T-Ag und das ALA ergibt sich im normalen Brustdrüsengewebe kein so regelhafter Befund. Das T-Ag ist als apikale cytoplasmatische Reaktion an den peripheren

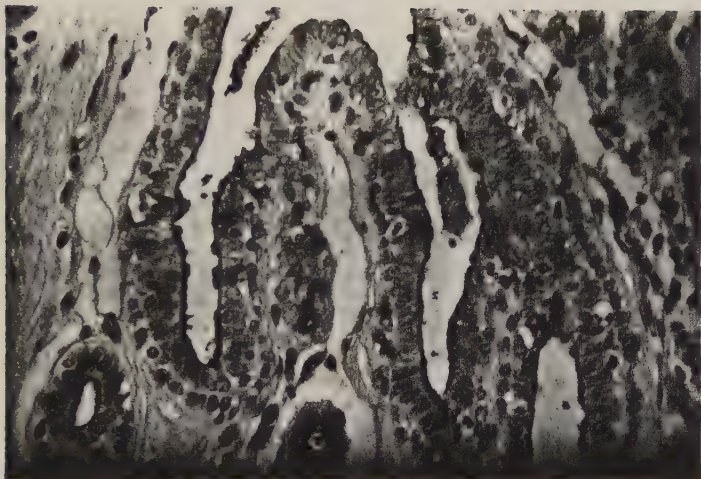


Abb. 3: Normale Brustdrüsenausführungsgänge mit dem typischen Reaktionsmuster beim Nachweis des EMA an der luminalen Zellmembran
J Nr 9806/85, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

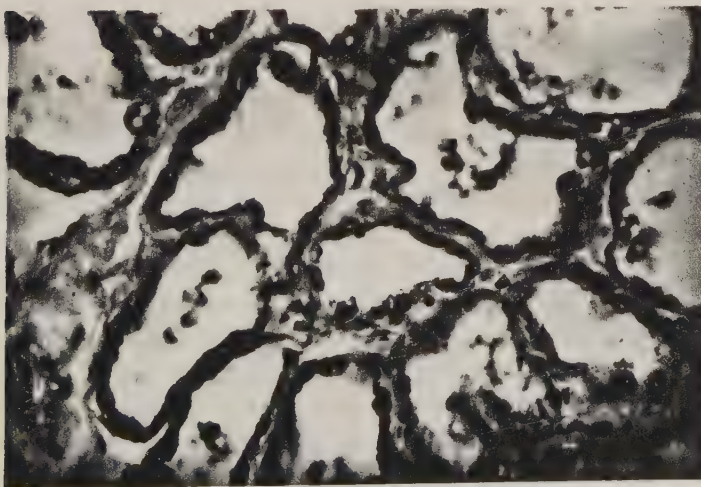


Abb. 4: Mamma lactans mit intensiver Farbreaktion beim Nachweis des ALA im Cytoplasma der alveolär transformierten Lobuli
S Nr 269/84, ALA, PAP, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

Gängen, besonders aber am duktulo-lobulären Übergang vorhanden. Die Azinuszellen reagieren diffus mit dem T-Ag.

Sehr uneinheitlich reagiert das Untersuchungsmaterial mit dem ALA. Soweit das Antigen überhaupt im Gewebe nachweisbar ist, zeigt es sich in den größeren Gängen als apikale Anreicherung in den Drüsenzellen; in den kleineren Gängen reagieren die Epithelien oft mit ihrem gesamten Cytoplasma. Intraluminär erkennt man oft Sekret, welches sich abschnürt und mitgefärbt wird.

IV.2 Benigne Erkrankungen

Morphologisch faßbare Veränderungen des Drüsengewebes lassen neben dem geweblichen Umbau auch eine Änderung der Funktionsleistung des Organs erwarten. Dementsprechend verhalten sich auch die Gewebemarker.

Kommt es zu Störungen im Wechselspiel mammotroper Hormone, dann sind oft Störungen die Folge, welche klinisch unter dem Bild einer Mastodynie imponieren. Eine rezidivierende Mastodynie schließlich kann zu dem morphologisch faßbaren Bild einer Mazoplasie führen, wobei es zu einer unregelmäßigen tubulären Proliferation kleinerer Gänge mit zirkumduktaler Fibrose und ungleichmäßiger Entwicklung der Drüsenläppchen kommt. Ein ähnliches Bild kann durch die Zufuhr exogener Substanzen erzeugt werden. Durch Einnahme psychotroper Pharmaka kann es sekundär über eine Erhöhung des Prolaktinspiegels zu einer Umwandlung der Drüsenläppchen kommen und eine sogenannte fokale oder diffuse Sekretion induziert werden (s. Abb. 7).

In einem solchermaßen durch Hormonwirkungen aktivierten Organ ist das EMA wiederum als apikale Randreaktion der Epithelien im gesamten Gangsystem vorhanden. Wie bei der laktierenden Mamma werden auch die umstrukturierten Azinuszellen mitgefärbt. Die Lobuli reagieren vor allem mit dem T-Ag, das gesamte Cytoplasma der Azinuszellen ist positiv. Als Parallele zur laktierenden Mamma ist hierselbst auch eine kräftige cytoplasmatische Reagibilität der Lobuli und des gesamten Gangsystems mit ALA zu beschreiben. Das immunhistochemische Profil weist auf eine aktive Sekretionsleistung hin.

Hormonale Imbalancen sind auch die Ursache für die Mastopathie. Sie ist definiert als nicht-neoplastischer Umbauprozess des Drüsenkörpers. Die hormonale Beeinflussung wirkt als Sekretionsreiz, welcher einen

Umbauprozess mit Sekretion und/oder Sekretionsbehinderung zur Folge hat. Zu den morphologisch faßbaren Veränderungen gehören Ektasien der ableitenden Milchgänge, bündelförmige Proliferationen peripherer Gangsegmente als duktiläre, noduläre oder sklerosierende Adenose und die Ausbildung von Cysten. Vorkommen und Ausmaß atypischer Epithelzellen ist dabei das wichtigste prognostische Kriterium (PRECHTEL 1980).

Die Gewebemarker verteilen sich bei mastopathischen Veränderungen anders als im regulär differenzierten Gewebe. Dort, wo das Gewebe im Sinne einer Adenose proliferiert ist, läßt sich das EMA wiederum bis in die terminalen Gangsegmente als apikale Randreaktion im Drüsenepithel erkennen; die cystisch erweiterten Bezirke werden mit EMA ebenso apikal und fokal angefärbt. Das gesamte Cytoplasma reagiert jeweils dort, wo es zu intraduktalen Umbildungen nach Art einer Epitheliose gekommen ist; zum Teil ist das Epithel dort einreihig, zum anderen mehrreihig. Intraduktale papilläre Komponenten sind an den Papillenspitzen positiv für das EMA (s. Abb. 5, Abb. 6).

Mit dem T-Ag läßt sich bei Mastopathie und bei allen Zuständen, in denen eine Sekretionsstörung angenommen werden kann, ein gesamt-cytoplasmatisches Reaktionsmuster erzeugen. Sowohl das die Cysten auskleidende flache Epithel als auch die Bereiche, die zu einer Adenose umstrukturiert sind, reagieren mit ihrem gesamten Cytoplasma positiv für das T-Ag. Auch bei intraduktaler Epitheliose wird das gesamte Zellplasma der apokrinen Metaplasie durch das Vorhandensein des T-Ag dargestellt. In den Lobulus-Zellen liegt das T-Ag ebenfalls diffus im Cytoplasma verteilt.

Für das ALA ist, soweit es bei Mastopathie nachweisbar ist, vor allem eine apikale Reaktion der Drüsenläppchen vorhanden. Cysten und Adenose-Bereiche sind

apikal positiv. Ist eine intraduktale Komponente vorhanden, so sind dort die Zellen cytoplasmatisch schwach positiv.

Die erhobenen Befunde lassen sich auch an anderen Formen der Mastopathie in dem vorhandenen Untersuchungsgut erschließen.

Das Drüsenepithel ist bei der sklerosierenden Adenose apikal positiv für das EMA. Das gesamte Zellplasma ist auch dort jeweils positiv für das T-Ag, wo eine Sekretretention angenommen werden kann. Apokrine (onkocytäre) Metaplasien und intraduktale papilläre Neubildungen reagieren an den Papillenspitzen fokal mit dem EMA. Das ist vor allem bei segmentaler proliferierender Papillomatose zu beobachten.

Die sogenannte juvenile Papillomatose (KIAER et al. 1970) ist eine Form der Mastopathie, welche im Alter von 15-20 Jahren vorkommt. Hierbei handelt es sich um eine multinoduläre oder tumorförmige Mastopathie mit Ausbildung multipler Cysten sowie starker papillärer Epithelproliferationen mit Zellatypien (ROSEN et al. 1980). Das abgeflachte Epithel der Cysten reagiert kräftig mit dem EMA, intraduktale papilläre Formationen, welche komedoartig das gesamte Lumen einnehmen können, reagieren mit ihrem gesamten Cytoplasma homogen für das EMA. Das übliche fokale Anreicherungsmuster des EMA findet sich bei der juvenilen Papillomatose nicht.

Das T-Ag ist im gesamten Cytoplasma der intraduktalen Neubildungen vorhanden. So ist auch mit dem ALA eine diffuse cytoplasmatische Reaktion der papillären Texturen zu erkennen. Das abgeflachte Epithel der Gänge reagiert nicht mit dem ALA.

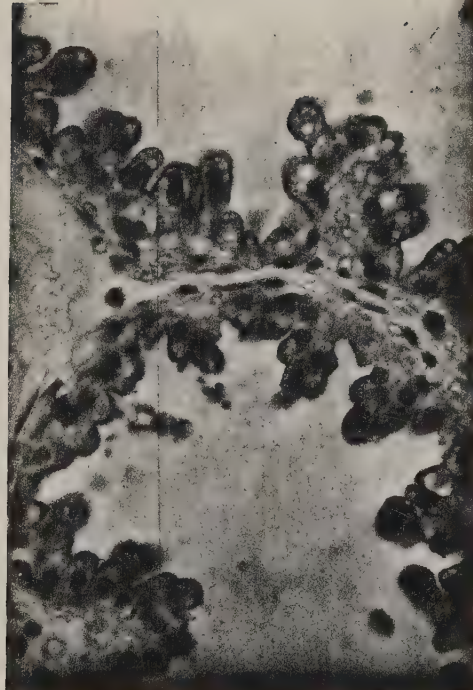


Abb. 5

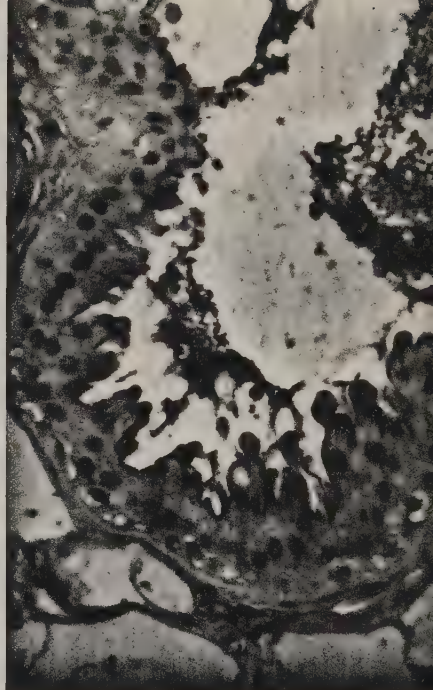


Abb. 6

Erläuterungen zu den Abbildungen auf der nächsten Seite

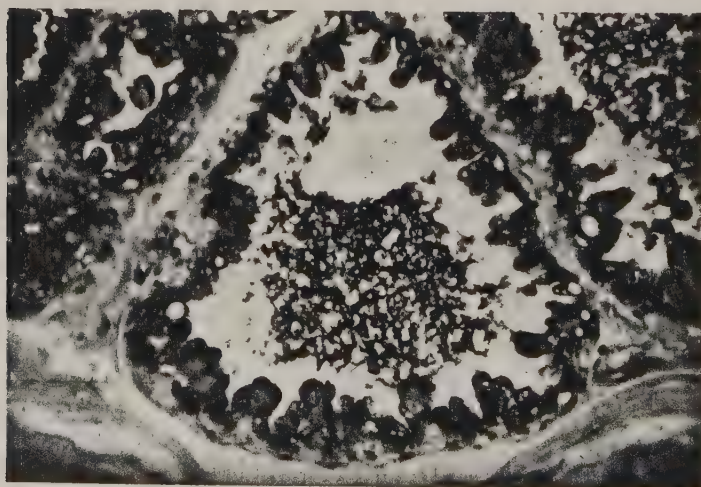


Abb. 7

Das Fibroadenom ist neben der fibrös-zystischen Mastopathie und dem Karzinom die häufigste Erkrankung der Brustdrüse. In ihrer Entwicklung kommt es zu einer tumorartigen myxoiden Verquellung des Bindegewebes, welches eine Kompression der drüsigen Strukturen mit Veränderungen des Epithels im Sinne einer Druckatrophie oder Epithelmetaplasie zur Folge haben kann.

In den vorliegenden Fibroadenomen läßt sich mit den Markern kein einheitlicher Reaktionsmodus erkennen. Nur in einem Fall reagiert komprimiertes Gangepithel mit ALA; auch die Reaktion des T-Ag verläuft sehr schwach. EMA ist zumeist auch im abgeflachten Epithel vorhanden, auffällig ist hier allerdings, daß in unveränderten Organbereichen sowohl das EMA als auch die anderen Marker stärker nachweisbar sind. Die schwache und auch teilweise fehlende Darstellbarkeit vor allem von T-Ag und ALA läßt sich in der Weise interpretieren, daß das Drüsenepithel in Fibroadenomen nur eingeschränkt sekretorisch aktiv ist. Diese Ansicht wird dadurch unterstützt, daß die Marker außerhalb der Fibroadenom-Knoten mit dem Epithel normal reagieren.

Abb. 5: Lobuläre Sekretion, EMA-Darstellung an der luminalen Zellmembran

J Nr 7113/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

Abb. 6: Mastopathia cystica fibrosa mit Gangektasie und apokriner Metaplasie, EMA-Reaktion mit Anfärbbarkeit der luminalen Zellanteile und sich abschnürender Sekretvakuolen

J Nr 9403/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 400 x

Abb. 7: Lobuläre Sekretion, intensive cytoplasmatische Reaktion der Drüsenzellen mit ALA, auch die Sekretionsprodukte werden mitgefärbt

J Nr 7113/84, ALA, PAP, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

IV.3 Maligne Tumoren und Metastasen

IV.3.1 Duktale und lobuläre Karzinome

IV.3.1.1 Nicht-invasives duktales Karzinom

Nicht-invasive duktale Karzinome werden durch eine intraduktale oder intraduktuläre atypische Epithelproliferation gekennzeichnet, welche die Basalmembran nicht durchbricht. Intraduktuläre Karzinome können sich aus Progressionsstufen bei proliferierender Mastopathie mit duktulärer Dysplasie herleiten. Der Grad der Entdifferenzierung ist zumeist gering, nach dem histologischen Muster kann man zwischen kribriformen, papillären und zentral-nekrotischen (Komedotyp) Formationen unterscheiden.

Immunhistochemische Untersuchungen (vergl. Tab. 2)

Tabelle 6: Nachweis der Tumormarker bei Nicht-invasiven dukталen Karzinomen*

		EMA	T-Ag	ALA
MR	146/84	+++	++	+
J Nr	11085/85	++	+	./.
J Nr	19155/85	+	+	+
J Nr	19865/85	+++	+++	+++

* Die Reaktionsstärke der Färbungen wurde nach drei Intensitätsgraden beurteilt, wobei (+) eine schwache Reaktion darstellt, (++) eine mittelgradige, (+++) eine starke Anfärbbarkeit; (Ø) bedeutet fehlende Farbreaktion, bei (./.) konnte die Färbung nicht durchgeführt werden.

Insgesamt wurden vier Fälle mit immunhistochemischen Mitteln analysiert. Ein Tumor (MR 146/84) lag primär als Lymphknotenmetastase zu Diagnostik vor, erst die immunhistochemische Musteranalyse der Metastase führte zur Entdeckung des Primärtumors (s. Kasuistik IV.3.4). Bei einem anderen nicht-invasiven dukталen Karzinom war es zur Ausbildung eines Morbus Paget gekommen (s. IV.3.1.5).

Betrachtet man sich das immunhistochemische Färbeverhalten dieser Entität (s. Abb. 12), so fällt auf, daß sämtliche Tumorzellen gut mit den Gewebemarkern EMA, T-Ag und ALA reagieren. Je nach Tumortyp kann dabei das EMA im gesamten Zellplasma der Geschwulstzellen oder an der Zellmembran nachgewiesen werden. Das T-Ag erscheint durchweg homogen im Cytoplasma verteilt. Überraschend gut reagiert das ALA, welches ebenfalls im Cytoplasma der Tumorzellen eingelagert ist.

Das immunhistochemische Verteilungsmuster unterstreicht die Tatsache, daß intraduktale nicht-invasive Karzinome in der Regel im Malignitätsindex sowie im Tumorgrading niedrig liegen. Beim Vergleich verschiedener Mastopathieformen mit intraduktalen Karzinomen sieht man, daß bei einer karzinomatösen Entartung die Zellen heftiger mit den verwendeten Gewebemarkern reagieren. Papilläre Formationen reagieren bei Mastopathie mit dem EMA apikal und fokal, beim Karzinom findet eine homogene Verteilung im Cytoplasma statt. Das T-Ag findet sich sowohl bei Mastopathie als auch beim Karzinom diffus im Zellplasma verteilt. Dies soll als Zeichen dafür gedeutet werden, daß bei beiden Zuständen der Tropismus der Sekretion gestört ist. Bei Mastopathie allerdings findet eine apikale und mehr gerichtete Ablagerung des ALA statt, während es bei intraduktalen Karzinomen zumeist im gesamten Cytoplasma sämtlicher Geschwulstzellen vorkommt.

Die hohe Differenzierung nicht-invasiver duktaler Karzinome kann zum indirekten immunhistochemischen Tumornachweis okkultter Karzinome genutzt werden. Oft ist es mit klinischen Methoden sehr schwierig, einen intraduktal sich ausbreitenden Tumor nachzuweisen. Bei fehlendem klinischen Primärtumornachweis kann über einen Nachweis der Tumormarker in den Metastasen ein wichtiger Hinweis auf den Primärtumor gewonnen werden.

IV.3.1.2. Invasives duktales Karzinom

Invasive duktale Karzinome leiten sich nach herkömmlicher Auffassung vom Epithel der terminalen Gangsegmente ab. Die Tumoren können solide, szirrhös oder adenomatös differenziert sein, in über der Hälfte der Fälle ist die Geschwulst einheitlich differenziert. Invasive duktale Karzinome sind mit einem Anteil von ca. 70% (BÄSSLER 1978) der häufigste maligne Tumor der Brustdrüse.

Die immunhistochemischen Befunde an 12 invasiven duktalem Karzinomen sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Immunhistochemisches Verhalten der Tumormarker bei invasiven duktalem Karzinomen

		EMA	T-Ag	ALA
MR	180/84	+	+	+
J Nr	53/84	+	+	./.
J Nr	155/84	+	Ø	Ø
J Nr	716/84	++	+	Ø
J Nr	2902/84	+	+	Ø
J Nr	15634/84	+	(+)	Ø
J Nr	17016/84	+++	+++	./.
J Nr	17891/84	++	Ø	Ø
J Nr	20490/84	+++	++	++
J Nr	23346/84	+	++	++
J Nr	19398/84	(+)	++	Ø
S. Nr	156/85	++	+	+

Invasive duktale Karzinome reagieren sehr gut mit dem EMA und dem T-Ag, während das ALA seltener, vornehmlich in höher differenzierten Anteilen nachgewiesen werden kann. In den zusammenliegenden Tumorkomplexen ist EMA vor allem in den Zellmembranen vorhanden. Cytoplasmatische Bindungsmuster kommen auch vor, vor allem dann, wenn Tumorzellen vereinzelt im Gewebe

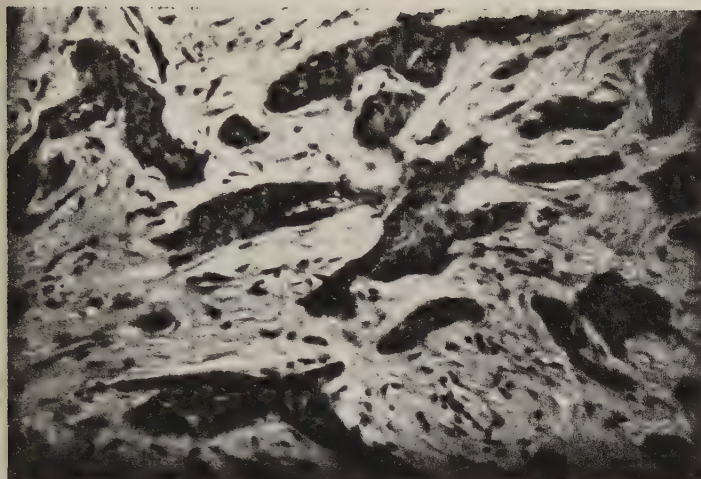


Abb. 8



Abb. 9

Erläuterungen zu
den Abb. 8-10
auf der nächsten
Seite

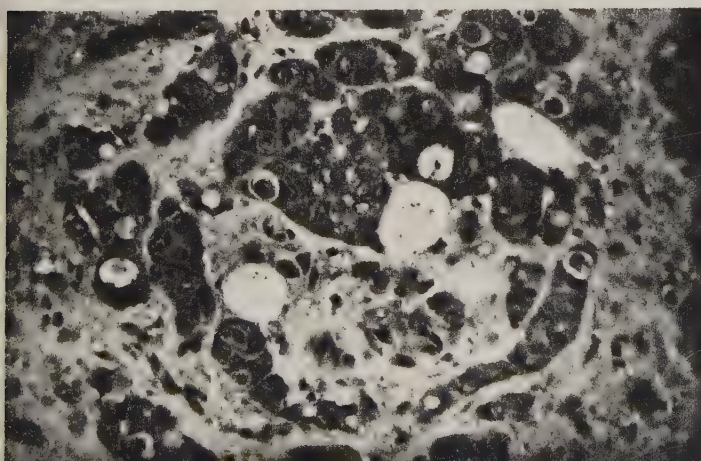


Abb. 10

vordringen. Nur einer der untersuchten Tumoren reagierte schwach mit dem EMA.

Auch das T-Ag läßt sich in den meisten invasiven duktafen Karzinomen nachweisen. Dort findet man es homogen im Cytoplasma verteilt. Das ALA ist vor allem in höher differenzierten Tumortypen positiv. Der Nachweis des ALA gelingt um so besser, je größer und zusammenhängender die Tumorkomplexe sind.

Das Verhalten der Tumormarker ist in den Abbildungen 8 bis 10 dokumentiert.

Abb. 8: Invasives duktales Karzinom vom Typ eines soliden und adenoiden Karzinoms, EMA-Nachweis im Cytoplasma und an den Zellmembranen der Tumorzellen
J Nr 716/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 160 x

Abb. 9: Invasives duktales Karzinom, diffuse cytoplasmatische und unterschiedlich starke Reaktion der Tumorzellen mit dem T-Ag
J Nr 20490/84, T-Ag, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

Abb.10: Invasives duktales Karzinom, gleicher Fall wie in Abb. 9, cytoplasmatischer Nachweis des ALA in den Tumorzellen
J Nr 20490/84, ALA, PAP, Haemalaun-Gegenfärbung, 650 x

IV.3.1.3 Carcinoma lobulare in situ

Das Carcinoma lobulare in situ (CLIS) stellt einen zu-
meist plurifokalen Kanzerisierungsprozeß dar und ist
durch eine Proliferation relativ kleiner, zum Teil
isomorpher Epithelzellen der basalen Zellreihe der
Lobuli und terminalen Gangsegmente charakterisiert
(HAAGENSEN 1971,1978; BÄSSLER 1978)

In fünf Fällen sind immunhistochemische Untersuchungen
dieser Entität vorgenommen worden. Der Intensitätsgrad
der Nachweisreaktion ist in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: Reaktionsvermögen der drei Tumormarker mit
dem CLIS

	EMA	T-Ag	ALA
J Nr 18775/84	++	(+)	+
J Nr 15536/85	+	+++	+
J Nr 16185/85	(+)	++	+
J Nr 18460/85	(+)	++	Ø
J Nr 18901/85	+	++	Ø/(+)

In sämtlichen vorliegenden Fällen ist eine positive
Reaktion mit dem T-Ag zu erzielen. Zumeist reagieren
die eng zusammenliegenden Zellen cytoplasmatisch stark
positiv. Das T-Ag erscheint im gesamten Zellplasma ho-
mogen verteilt.

Das EMA läßt sich zwar ebenso in allen Fällen nachwei-
sen, doch ist die Reaktion nur schwach. Es kommt eben-
so wie das T-Ag diffus verteilt im Cytoplasma vor. Das
ALA ist in drei der fünf Fälle nachzuweisen, doch ist
zu bemerken, daß die Tumorherde nicht einheitlich re-
agieren.

Der regelhafte Nachweis von T-Ag und insbesondere von
ALA weist darauf hin, daß das CLIS ein Tumor des zur
Synthese von Sekretionsprodukten befähigten Epithels
und nicht des Myoepithels ist.

IV.3.1.4 Invasives lobuläres Karzinom

Invasive lobuläre Karzinome nehmen ihren Ausgang aus dem lobulären Epithel und machen etwa 10-15% aller malignen Tumoren der Brustdrüse aus. Histomorphologisch handelt es sich um kleinzellige und stark infiltrierend wachsende Geschwülste. Die Diagnose einer von den Drüsenlobuli ausgehenden Geschwulst wird oft dadurch erleichtert, daß gleichzeitig Areale eines CLIS vorliegen. Die Transformation eines CLIS in diesen invasiven Tumortyp würde voraussetzen, daß die Tumorzellen durch die Basalmembran hindurch permeieren (BOGAERT u. MALDIGNE 1980).

Immunhistochemische Untersuchungen sind an 11 invasiven lobulären Karzinomen durchgeführt worden. Das Verhalten der Tumormarker EMA, T-Ag und ALA ist in Tabelle 9 wiedergegeben.

Tabelle 9: Reaktionsvermögen der drei Tumormarker mit invasiven lobulären Karzinomen

		EMA	T-Ag	ALA
MR	218/84	+	Ø	Ø
MR	3/85	+	Ø	Ø
MR	8/85	++	Ø	Ø
MR	36/85	+	++	Ø
MR	79/85	+	++	./.
MR	173/85	+++	./.	./.
J Nr	77/84	++	+	Ø
J Nr	9958/84	+	Ø	./.
J Nr	15924/84	+	Ø	Ø
J Nr	18900/85	++	+	Ø
J Nr	20350/85	++	(+)	Ø

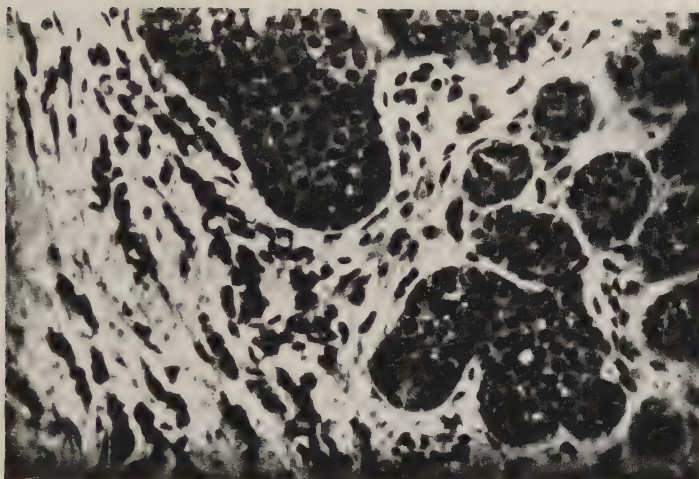


Abb. 11: Carcinoma lobulare in situ mit Ausbildung eines lobulären invasiven Karzinoms, EMA-Reaktion in invasiven und nicht-invasiven Tumorzellen in unterschiedlich starkem Ausmaß
J Nr 18775/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haem-alaun-Gegenfärbung, 650 x

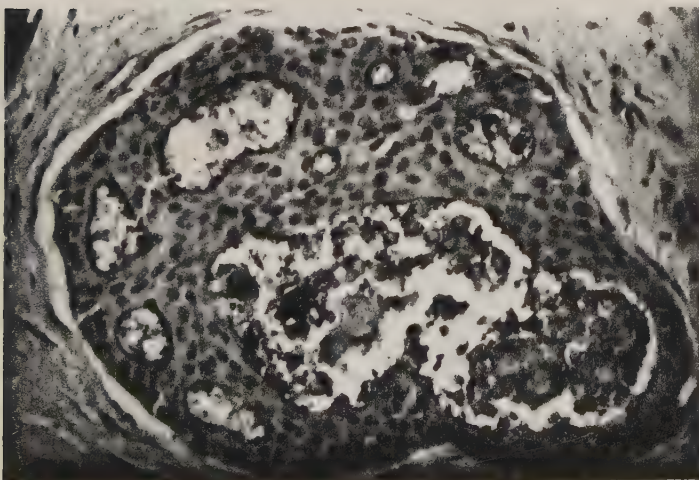


Abb. 12: Mamma-Karzinom mit intraduktalem kribriformer Tumorkomponente und Darstellung des EMA
J Nr 23346/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haem-alaun-Gegenfärbung, 650 x

Die kleinzelligen und wenig kohärenten Infiltrationsherde reagieren in keinem der vorliegenden Fälle mit dem ALA. Zwar läßt sich durchweg das EMA nachweisen (s. Abb. 11), doch ist hier das Reaktionsvermögen nicht einheitlich: Offensichtlich bestehen die Invasionsherde aus verschiedendn Subpopulationen. Größere und polymorph erscheinende Tumorzellen zeigen das EMA an ihren Zellmembranen, so daß sie im Gewebeverband wie ausgestanzt wirken. Demgegenüber läßt sich in den kleineren und isomorphen Tumorzellen, welche sehr kernreich sind, das EMA nicht erkennen. Das T-Ag ist nur vereinzelt in den größeren Tumorzellen nachweisbar. Liegt gleichzeitig ein CLIS vor, so reagieren dort die Zellen homogen mit dem T-Ag.

Die Betrachtung der immunhistochemischen Ergebnisse legt den Schluß nahe, daß es bei einem Übergang eines CLIS in einen invasiven Tumor zu einem Verlust an Zelldifferenzierung kommt, welche neben ihrem invasiven Wachstum vor allem in einer verminderten oder fehlenden Darstellbarkeit der Sekretionsmarker ALA und T-Ag ihren Ausdruck findet.

IV.3.1.5 Morbus Paget bei nicht-invasivem dukta len Karzinom

Beim Morbus Paget kommt es zu einem Einwachsen eines von den Milchgängen ausgehenden Karzinoms in Haut- und Hautanhangsgebilde der Mamille.

Mikroskopisch erkennt man die durch ein helles Cytoplasma und einen großen Kern mit prominenten Nukleolen ausgezeichneten Tumorzellen, welche als "Paget-Zellen" bezeichnet werden. Sie sind im Stratum germinativum, der Proliferationsschicht der Dermis, lokalisiert und wachsen kontinuierlich in das Stratum spinosum ein, wo sie sich weiter teilen. Auch erreichen sie die Oberflächen, wo sie das Stratum corneum durchsetzen und makroskopisch als Ulzeration in Erscheinung treten können.

Bei einem nicht-invasiven dukta len Karzinom vom Komedotyp (J Nr 19155/85) konnte histologisch das Vorliegen eines Morbus Paget gesichert werden.

Immunhistochemie: Die intradukta len gelegenen Tumorteile sind für alle drei Marker positiv, an der Mamille können sie nur mit dem EMA reagieren, während T-Ag und ALA negativ sind (BUSSOLATI 1975; VANSTAPEL 1984).

Die in verschiedenen Hautschichten lokalisierten Paget-Zellen lagern das EMA an ihren Zellmembranen ab (s. Abb. 13 u. 14), während die Epidermis normalerweise negativ für das EMA reagiert. Auffallend ist, daß in der Umgebung liegende Schweißdrüsen auch positiv für das EMA sind. Dieser Befund legt die Vermutung nahe, daß die Paget-Zellen beim Wachstum aus den Drüsengängen in die Haut ihre Differenzierung umgestellt haben, und zwar in dem Sinne, daß die Sekretionsmarker T-Ag und ALA nun nicht mehr darstellbar sind. Das weitere Vorhandensein des EMA beweist die Herkunft der Paget-Zelle aus einer drüsig differenzierten Zelle eines Hautanhangsgebildes.



Abb. 13: Morbus Paget der Mamille mit starkem Reaktions-
produkt in den Paget-Zellen, normales Epithel
negativ für EMA

J Nr 19155/85, EMA, indir. Immunperoxidase, Haem-
alaun-Gegenfärbung, 160 x



Abb. 14: Gleicher Fall wie i.
Abb. 13, stärkere Vergrößeru.
EMA-Nachweis in den Tumorzellen
die in verschiedenen Schichten
der Haut lokalisiert sind
J Nr 19155/85, EMA, indir.
Immunperoxidase, Haemalaun-
Gegenfärbung, 650 x

IV.3.2 Karzinome mit spezieller Differenzierung

IV.3.2.1 Medulläres Karzinom mit lymphoidem Stroma

Medulläre Karzinome machen etwa 4-7% aller Mamma-Karzinome aus. Es handelt sich dabei um kapsulär begrenzte Tumorformen, welche ein besonderes histologisches Muster mit lymphoidem Stroma aufweisen und eine günstigere Prognose haben. Nach histologischen Kriterien unterteilt man die medullären Karzinome in drei Typen, wobei die unterschiedliche Ausprägung des lymphoiden Stromas das maßgebliche Kriterium darstellt (RIDOLFI et al. 1977; BÄSSLER et al. 1981).

Die immunhistochemischen Untersuchungsergebnisse bei medullären Karzinomen sind in Tabelle 10 aufgeführt, wobei wiederum die unterschiedliche Farbreaktion gewertet wurde.

Tabelle 10: Immunhistochemische Darstellbarkeit der Tumormarker an medullären Karzinomen

		EMA	T-Ag	ALA
J Nr	6678/84	++	Ø	./.
J Nr	16848/84	(+)	Ø	Ø
J Nr	18676/84	+++	(+)	+++
J Nr	18678/84	++	++	++
J Nr	19255/84	++	(+)	./.
J Nr	19900/84	(+)	Ø	Ø
J Nr	18903/85	++	+++	++

Medulläre Karzinome verhalten sich von der Darstellbarkeit der Marker EMA, T-Ag, und ALA ähnlich den invasiven duktaalen Karzinomen. Das EMA ist in sämtlichen untersuchten Fällen vorhanden, man findet es auf den Zellmembranen der Tumorzellen, welche allerdings nicht einheitlich reagieren. Das T-Ag läßt sich weniger häufig und intensiv nachweisen, es findet sich bevorzugt im Cytoplasma der Tumorzellen, welche ohne lymphoide Matrix beieinander liegen.

Für das ALA gilt in der Zusammenschau mit den anderen beiden Markern, daß es nur positiv ist, wenn die anderen Tumormarker auch vorhanden sind. Offenbar charakterisiert das ALA Zelleigenschaften, welche bei einer malignen Entartung früher verloren gehen, während das EMA eine Struktur repräsentiert, welche relativ lange erhalten bleibt. Das EMA kennzeichnet die Herkunft der Tumorzelle aus einer drüsig differenzierten Zelle eines Hautanhangsgebildes, während das ALA als "Sekretionsmarker" für eine hoch spezifische Zelleistung steht.

Dies bedeutet für die medullären Karzinome, daß sie mit den drei Markern in histochemisch gut differenzierte und weniger gut differenzierte Formen, bei denen lediglich das EMA positiv ist, eingeteilt werden können. Eine ähnlich gute Darstellbarkeit der Gewebemarker EMA, T-Ag und ALA besteht nur bei den nicht-invasiven ductalen Karzinomen, welche eine ähnlich gute Prognose haben.

IV.3.2.2 Tubuläres Karzinom

Dieser Typ eines hoch-differenzierten Adenokarzinoms weist ein überwiegend tubuläres Muster auf. Die Zellen sind dabei zumeist kubisch bis prismatisch, die Lichtungen von wechselnder Weite und teilweise von einer schleimigen, PAS-positiven Flüssigkeit ausgefüllt.

Immunhistochemisch ergibt sich ein überraschender Ausfall der Gewebemarker. Das EMA verhält sich sehr unterschiedlich und ist in den Tubuli teilweise basal positiv; apikal zum Lumen hin ist EMA positiv, wenn Sekret vorhanden ist. In den drüsigen Strukturen ist EMA diffus im Cytoplasma verteilt. T-Ag und ALA lassen sich in diesem Tumor nicht nachweisen. Obwohl der Tumor histologisch gut differenziert ist, spricht das immunhistologische Profil für eine weitergehende Stoffwechsel-entdifferenzierung der Krebszellen.

IV.3.2.3 Sekretorisches Karzinom

- Sekretorisches (juveniles) Karzinom der Mamma in graviditate (mens IX) -

Das dem Schwangerschaftszustand entsprechende lobuläre Parenchym mit großen, das heißt hyperplastischen Drüsenläppchen, welche zahlreiche und erweiterte Endstücke aufweisen, läßt eine gleichmäßige sekretorische Aktivität erkennen. Das EMA ist hier am lumennahen Saum nachweisbar, im Cytoplasma ist das T-Ag vorhanden. In den transformierten Alveolarzellen ist in hoher Konzentration ALA nachzuweisen.

Daneben sind ungewöhnliche Proliferationsprozesse des Drüsenkörpers vorhanden. Diese bilden teilweise kleinere, unscharf vom lobulär hyperplastischen Parenchym abgegrenzte Bezirke aus, andererseits auch relativ große knotige Texturen, die dadurch charakterisiert sind, daß hier die originäre lobuläre Gliederung zugunsten flächenhafter tubulo-alveolärer Proliferationsprozesse des Parenchyms aufgehoben ist. Hier finden sich kubische und prismatische Epithelzellen mit großen, zum Teil hyperchromatischen Kernen, auffällig großen Nukleolen, reichlich Mitosen, und ein intensiver Proliferationsprozeß, der eine gewisse Ordnung erkennen läßt, sich aber andererseits von dem beschriebenen tubulären Muster abhebt. Man erkennt eine hohe Zahl von Mitosen, zellreiche tubuläre Proliferationen, teilweise auch knospenartige Proliferate und ein kontinuierliches, teilweise infiltratives Vordringen in das Stroma (TAVASSOLI u. NORRIS 1980; OBERMAN 1980).

Immunhistochemie: In den tubulo-alveolären Formationen des Karzinoms ist das EMA apikal positiv (s. Abb. 15), die drüsigen, teils knospenartigen Formationen weisen EMA diffus cytoplasmatisch verteilt auf. Auch das T-Ag ist in den tubulären Partien nur apikal positiv, in den

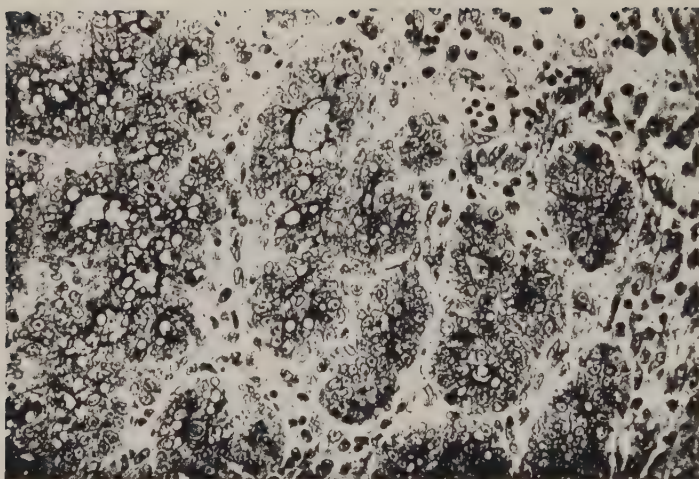


Abb. 15: Sekretorisches Karzinom, apikale EMA-Reaktion in den tubulo-alveolären Formationen
MR 159/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 400 x

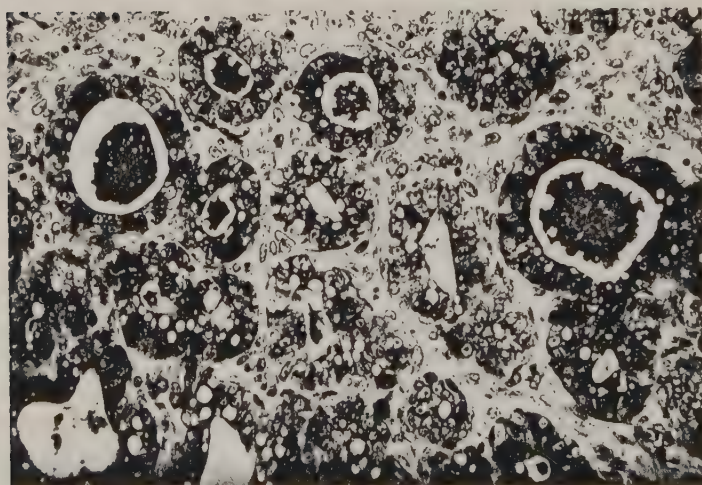


Abb. 16: Sekretorisches Karzinom, tubuläre Abschnitte mit teilweise heftiger cytoplasmatischer Expression des ALA
MR 159/84, ALA, PAP, Haemalaun-Gegenfärbung, 400 x

zusammenhängenden knospenartigen Proliferaten ist T-Ag im Cytoplasma nachweisbar. ALA läßt sich in den tubulären Zellen nachweisen (s. Abb. 16), die teilweise recht heftig reagieren. In den Proliferationsherden ist ALA nur fokal zum Lumen hin vorhanden.

IV.3.2.4 Groß- und hellzelliges duktales Karzinom

Dieser seltene, sowohl drüsig als auch solide aufgebaute Tumor zeichnet sich durch ein auffallend transparentes Cytoplasma aus. Quantitativ im Vordergrund steht eine ausgeprägte lymphangische Karzinose mit stark erweiterten Lymphgefäßen und darin eingelagerten papillären bis angedeutet kribriformen Zellhaufen. Insgesamt ergibt sich der histologische Aspekt eines gering differenziierten und überwiegend großzelligen Karzinoms (BÄSSLER 1978; AZZOPARDI 1979).

Immunhistochemisch reagieren die Tumorzellkomplexe sehr heftig mit dem EMA in ihrem Cytoplasma, auch das T-Ag ist deutlich positiv. Sowohl von seinem biologischen Wachstum als auch von dem hoch positiven Ausfall der Tumormarker kann die vorliegende Geschwulst seinem Ursprung nach einem duktalem Karzinom zugeordnet werden.

IV.3.2.5 Siegelringzell-Karzinom

Der Tumor wird aus dicht gelagerten und vornehmlich atypischen Zellverbänden aufgebaut. Die polymorphen Zellkerne liegen zum Teil am Rande der Zellen und entsprechen dem Bild siegelringzelliger Formationen. In der PAS-Färbung stellt sich ferner eine intra- und extrazelluläre Schleimbildung dar (STEINBECHER u. SILVERBERG 1976; HARRIS et al. 1978).

Immunhistochemisch sieht man, wie die Tumorzellen mit dem EMA reagieren. Intracytoplasmatisch erkennt man keine Anfärbung für das EMA. Das T-Ag findet sich nur vereinzelt in den Zellen. Es wird im Cytoplasma vornehmlich dort eingelagert, wo die Zellen auch in der PAS-Färbung reagieren. ALA kann bei der vorliegenden Geschwulst nicht nachgewiesen werden. Offensichtlich sind die Tumorzellen sekretorisch aktiv, was durch den cytoplasmatischen Nachweis des T-Ag nahegelegt wird, doch erscheint dieser Prozeß gestört. Die Tumorzellen können zwar weiterhin Kohlenhydrate produzieren (positive PAS-Reaktion), eine geordnete Syntheseleistung kann aber nicht mehr ablaufen, was das fehlende Ansprechen auf ALA erklären könnte.

IV.3.2.6 Karzinom mit ektooper HCG-Produktion

Im Verlauf ihres Wachstums können Mamma-Karzinome ihre Differenzierung ändern. Zur Untersuchung gelangte ein Rezidivtumor der linken Brust nach vorangegangener Mastektomie wegen eines Mamma-Karzinoms. Der Rezidivtumor wird durch reichlich großzellige, unregelmäßige und pleomorphe Zellformationen aufgebaut, auch kommen reichlich pathologische Mitosekonfigurationen und mehrkernige Tumorriesenzellen vor. Bei vorliegendem Bild wurde differentialdiagnostisch vor allem an ein Rhabdomyosarkom, ein malignes Melanom oder ein Chorionepitheliom gedacht (SAIGO u. ROSEN 1981).

Immunhistochemisch reagieren die Tumorzellen mit dem EMA nicht. Das läßt vermuten, daß der Tumor sich weitgehend von seinem epithelialen Muster gelöst hat. Überraschenderweise läßt sich das T-Ag sehr gut in den großen Cytoplasmarräumen der Tumorzellen erkennen, auch das ALA ist positiv, doch erscheint es nicht in allen Tumorzellen gleich kräftig verteilt. Auf Grund des morphologischen Aspektes der Tumorzellen wurden in diesem Fall zusätzlich noch immunhistochemische Untersuchungen mit dem Marker HCG (Human-Chorionic-Glycoprotein) durchgeführt, welche hoch positiv ausfielen.

Zusammenfassend stellt sich bei diesem seltenen Mammabefund eine weitgehende epitheliale Entdifferenzierung dar. Die Sekretionsmarker T-Ag und ALA sind positiv, der zusätzliche Nachweis des HCG läßt vermuten, daß die Tumorzellen zu hochspezifischen Syntheseleistungen befähigt sind.

IV.3.2.7 Malignes Adenomyoetheliom

Der Tumor wird durch eine starke mesenchymale, unterschiedlich zellreiche Komponente mit Fasertexturen charakterisiert, zum anderen kommen randlich lokalisierte drüsige Partien vor, die einmal ein tubuläres Muster haben und zum anderen von wechselnd zellreichen Formationen nach außen umgeben sind. An anderen Stellen finden sich Proliferationen eines hellen myoethelialen Gewebes, welches zwischen diesen Drüsenformationen entstanden und ausgebildet ist.

Obwohl der Tumor histologisch sehr wohl definiert erscheint, läßt sich keiner der verwendeten Gewebemarker am untersuchten Material nachweisen. In diesen Tumoren ist eine starke positive Reaktion auf Aktin zu erwarten (BUSSOLATI et al. 1984). Dieser immunhistochemische Nachweis wurde in dieser Arbeit nicht angewendet.

IV.3.3 Karzinom-Metastasen

An einem Fall aus dem Sektionsgut (S Nr. 156/85) konnten Primärtumor und Metastasen immunhistochemisch untersucht werden. Der Primärtumor, ein invasives duktales Karzinom, ist deutlich positiv für EMA und T-Ag, während ALA nur relativ schwach reagiert. In regionalen Lymphknotenmetastasen können ebenso wie in der Pleura visceralis und am entkalkten Knochen mit den Markern Tumorzellen nachgewiesen werden, wobei die Reaktion in den Metastasen durchwegs kräftig ausfällt.

Auch solitäre Organmetastasen sind mit den am Mamma-Gewebe erprobten Gewebemarkern untersucht worden. Voraussetzung für eine immunhistochemische Verarbeitung ist dabei, daß sie nach den gleichen erprobten Richtlinien wie an der Mamma erfolgt. ALA ist in dem vorliegenden Material nur sehr schwierig nachzuweisen. Zur Darstellung des ALA eignet sich nur Lymphknotenmaterial, welches unmittelbar nach der Entnahme verarbeitet wird. Die angegebene Zeit der Formalinfixierung darf dabei nicht überschritten werden. Die Ursache für den schwierigen Nachweis des ALA mag in der instabilen Molekularstruktur des Glycoproteins liegen, welche durch die Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials leicht zerstört wird.

In Gewebe von Lymphknoten, Haut und Knochen kommen die verwendeten Marker normalerweise nicht vor. Dies ist auch am entzündlich veränderten Gewebe der Fall.

Kommt es zu einer Propagation von Zellen eines malignen Mamma-Tumors, dann können mit Hilfe der Marker auch wenige positiv reagierende Zellen nachgewiesen werden und so zu einer wesentlichen Erleichterung der histo-pathologischen Tumordiagnostik führen.

Die immunhistochemischen Befunde an Metastasen sind in Tabelle 11 dargelegt.

Tabelle 11: Immunhistochemische Darstellbarkeit der Tumormarker an Metastasen

		EMA	T-Ag	ALA	
MR	155/84	+++	+	++	axilläre Metastase eines intra- duktalen Komedo-Karzinoms
J Nr	2354/84	+++	++	Ø	Hautmetastase eines invasiven duktalen Karzinoms
J Nr	7474/84	+++	+	(+)	Lymphknoten-Metastase eines soliden Karzinoms
J Nr	12853/84	+++	./.	./.	Lymphknoten-Metastase eines groß- und hellzelligen Karzinoms
J Nr	15933/84	+++	++	./.	Lymphknoten-Metastase eines inva- siven duktalen Karzinoms
J Nr	19045/84	+	+	Ø	Lymphknoten-Metastase eines CLIS
J Nr	19267/84	+++	++	+	Lymphknoten-Metastase eines me- dullären Karzinoms Typ III
J Nr	19572/84	++	./.	+	Beckenstanze mit einer osteo- klastischen Metastase
J Nr	21032/84	+++	Ø	(+)	Makro-Metastase der Axilla eines medullären Karzinoms
J Nr	23417/84	+++	(+)	./.	Lymphknoten-Metastase eines inva- siven duktalen Karzinoms
J Nr	24761/84	Ø	Ø	Ø	Lymphknoten mit unspezifischem Sinuskatarrh
J Nr	25146/84	(+)	Ø	./.	Lymphknoten-Metastase eines inva- siven duktalen Karzinoms
J Nr	15536/85	++	+++	++	Hautmetastase

Bei Lymphknotenmetastasen von drei untersuchten unvasiven dukталen Karzinomen reagieren die Tumorzellnester in den Lymphknotensinus uniform mit ihrem gesamten Cytoplasma für das EMA und das T-Ag positiv. Auch bei der lymphogenen Metastasierung eines CLIS reagieren die stark disseminierten multizentrischen Herde in den Lymphknoten mit ihrem gesamten Zellplasma positiv für EMA und T-Ag. Die Darstellung des T-Ag erfolgt hier aber schwächer. Die beiden untersuchten Lymphknoten-Metastasen medullärer Karzinome zeigen das EMA jeweils an der Zellmembran der Tumorzellen, wohingegen nur einer der Tumoren mit dem T-Ag reagiert.

Insgesamt sind die Untersuchungen an Lymphknotenmaterial zu gering, um weitergehende Aussagen zu machen. Dennoch lassen sich bei Betrachtung der Ergebnisse und im Vorgriff auf die Untersuchungen zu okkulten Karzinomen einige Schlüsse ziehen.

1. Die überwiegende Mehrzahl der Primärtumoren als auch der Metastasen reagiert mit dem EMA. Dies bedeutet, daß EMA auch zur Auffindung sehr kleiner Metastasierungsherde geeignet ist, welche bei der konventionellen histologischen Betrachtung nur sehr schwer erkannt werden können.
2. Für das T-Ag gilt, daß es bei Vorkommen in Tumorzellen wie auch in Metastasen immer im gesamten Cytoplasma der Zellen vorhanden ist. Dies läßt nach bisherigen Erkenntnissen den Schluß zu, daß der Sekretionsprozeß in den Zellen gestört ist.
3. Durch immunhistochemische Techniken können wesentlich weitergehende Aussagen über die Differenzierung von Metastasen gemacht werden. Dadurch können wichtige Rückschlüsse auf die Art des Primärtumors erlangt werden.

In anderen Organen können Zellen aus metastasierenden Mamma-Karzinomen auch dargestellt werden. So können unter Anwendung der drei Marker zwei Hautmetastasen dargestellt werden. Ebenso wie in den Lymphknoten-Metastasen reagieren die weitgehend soliden und teilweisen adenoiden Zellverbände mit ihrem gesamten Zellplasma für die Marker EMA und T-Ag, in einem Fall auch mit dem hoch spezifischen Marker ALA.

Die Herkunft von Tumorzellen ist vor allem bei Knochenmetastasen (GUGLIOTTA et al. 1981) schwierig zu beurteilen. Unter dieser Fragestellung wurden Partikel einer Beckenstanze mit einer osteoklastischen Metastase untersucht. Auf Grund der adenoiden Tumorfiltration wurde von der Histomorphologie schon ein Mamma-Karzinom in Erwägung gezogen; wegen der ebenfalls vorhandenen hellzelligen Partien ist differentialdiagnostisch aber noch ein Nierenkarzinom abzugrenzen. Um die Frage der histogenetischen Zuordnung des metastatischen Tumors und den Sitz des Primärtumors beantworten zu können, wurden immunhistochemische Untersuchungen mit EMA und ALA durchgeführt. Die Reaktion mit dem EMA ist stark positiv, was die epitheliale Genese eindeutig unterstreicht. Da auch das ALA in den Tumorzellen vorhanden ist, kann nun der Tumor einem metastasierenden Mamma-Karzinom zugeordnet werden.

IV.3.4 Okkulte Karzinome

Dem sowohl klinisch als auch mammographisch okkulten Karzinom liegen sehr kleine oder mit physikalischen Methoden nicht faßbare Primärtumoren zugrunde, so daß bei einem insgesamt symptomarmen klinischen Bild vor Entdeckung des Primärtumors bereits metastatische Absiedlungen vorliegen. Dieser Umstand ist für die Diagnose okkulter Karzinome der Mamma von Bedeutung, weil der bevorzugte Metastasierungsweg in die axillären Lymphknoten der histo-pathologischen Untersuchung leicht zugeführt werden kann. Aus dem Muster der Metastase kann mit gewisser Wahrscheinlichkeit auf die Art des Primärtumors geschlossen werden.

Unter der Vorstellung, daß es sich bei der Metastase pathogenetisch um eine Verschleppung und ein Anwachsen von Zellen eines biologisch sich maligne verhaltenden Tumors handelt, wurden in vier Fällen axilläre Lymphknotenmetastasen untersucht. In keinem der beschriebenen Fälle war mit klinischen, mammographischen oder anderen radiologischen Methoden ein Hinweis auf den Primärtumor zu gewinnen.

Fall 1: 58-jährige Patientin mit seit drei Wochen bestehender axillärer Lymphknotenschwellung links. Klinische Untersuchungen inklusive Mammographie, Gastroskopie und andere Roentgen-Untersuchungen erbringen keinen Hinweis auf einen Primärtumor. Die konventionelle Histologie zeigt in einem vergrößerten Lymphknoten Tumorabsiedlungen eines papillären Musters mit großen, chromatinreichen Zellkernen. Auch liegen intracytoplasmatische Schleimvakuolen vor, die ebenfalls vorhandenen Nekrosen erlauben die Verbindung zu einem Komedokarzinom.

Bei vorliegendem histologischen Befund konnte sich der Chirurg wegen des fehlenden klinischen Primärtumornachweises nicht zu einer Ablatio mammae entscheiden.

Die immunhistochemische Aufarbeitung der Lymphknoten (MR 146/84, s. Abb. 17,18 u. 19) ergibt einen positiven Ausfall des EMA, als auch des T-Ag und des ALA. Da sowohl die Histologie als auch der immunhistochemische Befund für das Vorliegen eines Mamma-Karzinoms sprechen, wird eine Ablatio mammae mit radikaler Lymphonodektomie durchgeführt.

Das Mamma-Amputat zeigte retromammär über der Pectoralisfascie einen derben grau-glasigen Knoten mit einem maximalen Durchmesser von 14 mm. Histologisch liegt ein intraduktales Karzinom mit ausgeprägter lymphangischer Karzinose vor.:

Fall 2: 48-jährige Frau mit einem Tumor am Processus axillaris der linken Mamma. Schnellschnittdiagnose: medulläres Karzinom. Nach histologischer Aufarbeitung wurde die Diagnose eines invasiven undifferenzierten Karzinoms vom soliden bis szirrhösen Typ gestellt. Klinische und mammographische Erhebungen können keinen Hinweis auf einen Primärtumor erbringen. Mit der Frage nach der Gewebsherkunft werden immunhistochemische Untersuchungen (MR 234/84) eingeleitet. Danach läßt sich zur Differenzierung des Tumorgewebes folgendes aussagen: EMA zeigt einen stark positiven Ausfall und belegt, daß es sich eindeutig um einen epithelialen Tumor handelt. Das T-Ag ist ebenfalls stark positiv, wobei sämtliche Formationen in gleicher Weise betroffen sind. ALA dagegen ist negativ.

Nach dem histologischen Muster und dem immunhistochemischen Profil kann jetzt die Diagnose einer Metastase eines invasiven duktales Karzinoms sicherer gestellt werden. Die Bestimmung der Steroidhormonrezeptoren im Tumorgewebe erbringt für Oestrogen- und Progesteronrezeptoren jeweils positive Befunde.

Im Mastektomie-Präparat kann im oberen äußeren Quadranten ein invasives duktales Karzinom vom soliden bis szirrhösen Typ nachgewiesen werden.

Fall 3: 53-jährige Frau, bei der histologisch eine Mastopathia fibrosa cystica III mit Epithelatyphen sowie sklerosierender Adenose festgestellt werden. In den mitentnommenen Axilla-Lymphknoten zeigen sich ausgedehnte Metastasen eines undifferenzierten soliden Karzinoms, wobei in erster Linie die Zuordnung zu einem soliden Karzinom der Mamma erwogen wird. Klinisch, mammographisch sowie roentgenologisch läßt sich nirgends im Bereich der Mamma sowie des Thorax ein Primärtumor finden. Die Untersuchung mit den Gewebemarkern (MR 19/85) ergibt einen stark positiven Ausfall des EMA, wodurch die epitheliale Natur der Metastase eindeutig unterstrichen wird. Auch das T-Ag ist positiv, wohingegen ALA negativ ist. Da die Geschwulst wenig differenziert und weitgehend solide wächst, verwundert es nicht, daß ALA, welches mit einer sekretorischen Komponente oder Potenz verbunden wird, hier negativ ist. Die vorläufige Diagnose lautet somit: axilläre Lymphknotenmetastase mit einem soliden, infiltrierend wachsenden Karzinom, sehr wahrscheinlich Mamma-Karzinom. Auch in Kenntnis dieser Befundkonstellation lehnt die Patientin weitere operative Eingriffe ab.

Fall 4: 59-jährige Frau, bei der in einem axillären Lymphknoten eine Metastase eines adenoid-cystischen Karzinoms mit paranodulärer Lymphangiosis carcinomatosa diagnostiziert wird. In der Mamma läßt sich mit klinischen Methoden kein pathologischer Befund erheben, auch die Tumorsuche in Schilddrüse, Gastrointestinaltrakt und Ovarien bringt keinen Hinweis auf den Primärtumor.

Immunhistochemie (MR 135/85): Der Nachweis des T-Ag in den Tumorzellformationen ist schwach positiv, ALA dagegen reagiert stark positiv, wenn auch nicht einheitlich. Dieser Sachverhalt in Verbindung mit dem histologischen Merkmalen lenkt zweifellos in erster Linie auf Metastasen eines Mamma-Karzinoms hin.

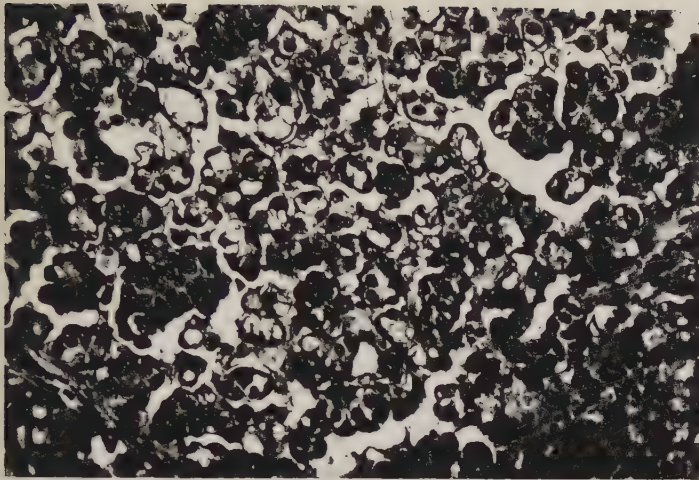


Abb. 17

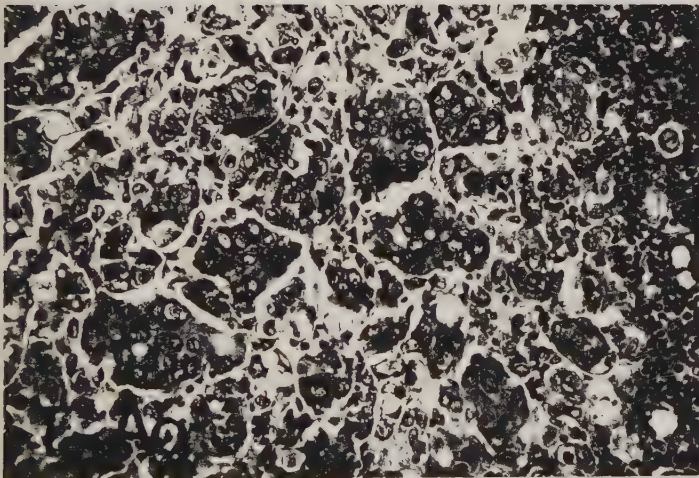


Abb. 18

Erläuterungen zu
den Abb. 17-19
auf der nächsten
Seite

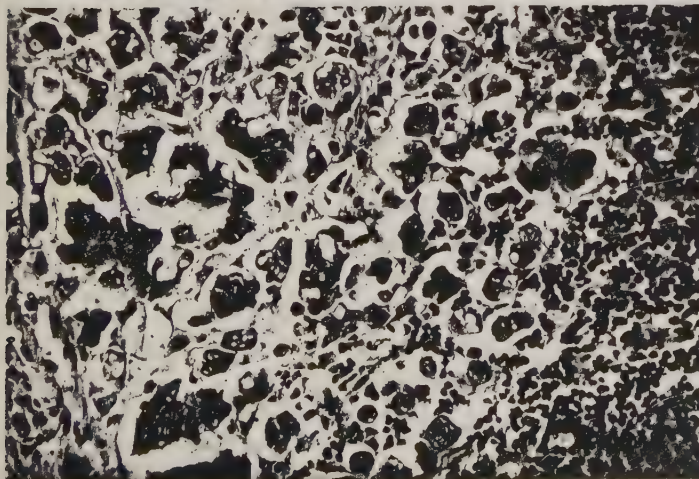


Abb. 19

Insbesondere durch den Nachweis des ALA könnte man sich vorstellen, daß in der Mamma ein überwiegend intraduktal wachsendes Karzinom vorliegt, welches herdförmig infiltrierend wächst und zu diesen Metastasen geführt hat. Dabei entspricht es der Erfahrung, daß intraduktale Karzinome gelegentlich nicht klinisch oder mammographisch sicher erfaßbar sind.

Zur Frage der Dignität der beobachteten Lymphknotenveränderungen kann unter Beachtung der klassischen Malignitätskriterien relativ einfach Stellung bezogen werden. Schwieriger ist es, aus dem Wachstumsverhalten und der Zellart auf den Typ und somit den Sitz des Primärtumors zu schließen. In diesem Zusammenhang stellen die immunhistochemischen Techniken eine wesentliche Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten dar, weil mit Hilfe von Gewebemarkern die Treffsicherheit und die Möglichkeit der Charakterisierung von Tumorzellen wesentlich verbessert wird.

Wenn man sich die therapeutischen Konsequenzen der Diagnose eines okkulten Mamma-Karzinoms vor Augen führt, dann ist die Festigung der histo-pathologischen Aussage von erheblicher klinischer Relevanz.

Abb. 17: Axilläre Lymphknoten-Metastase eines okkulten Mamma-Karzinoms, Lymphknoten-Sinus mit Tumorzellen und EMA-Nachweis auf den Zellmembranen, originäres lymphatisches Gewebe negativ
MR 146/84, EMA, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 400 x

Abb. 18: Homogene T-Ag-Expression im Cytoplasma der Tumorzellen, gleicher Fall wie Abb. 17, lymphatisches Gewebe negativ
MR 146/84, T-Ag, indir. Immunperoxidase, Haemalaun-Gegenfärbung, 400 x

Abb. 19: Cytoplasmatischer Nachweis von ALA in einer axillären Lymphknotenmetastase eines okkulten Mamma-Karzinoms, MR 146/84, ALA, PAP, Haemalaun, 400 x

V. DISKUSSION

Die mammotropen Gewebemarker, deren Reaktionen hier beschrieben worden sind, können sowohl im normalen Mamma-Gewebe, in benignen und malignen Veränderungen, als auch in Metastasen nachgewiesen werden.

EPITHELIALES-MEMBRAN-ANTIGEN

Im normalen Mamma-Gewebe kommt das EMA am apikalen Pol der Epithelien im gesamten Gangsystem vor. Normalerweise erfolgt in den Lobuli keine EMA-Expression. Werden die Lobuli sekretorisch transformiert, so ist dort in den Azini das EMA ebenfalls als apikale Randreaktion vorhanden. Auch bei der Mastopathie ist EMA im gesamten Gangsystem nachweisbar, bei papillären Veränderungen ist EMA in den Papillenspitzen angereichert. Die überwiegende Mehrzahl der Karzinome bildet das EMA an ihren Zellembanen. Dies gilt vor allem für die invasiven duktaalen Karzinome. Das EMA kann sowohl in Primärtumoren als auch in Metastasen nachgewiesen werden. Teilweise ist das EMA hier im gesamten Cytoplasma der Tumorzellen vorhanden.

Viele ektodermale Organe mit glandulärer Differenzierung enthalten in ihren Epithelzellen das EMA. Dazu gehören sämtliche dem Verdauungstrakt zugeordneten Drüsensysteme wie Speicheldrüsen (GUSTERSON, LUCAS et al. 1982), Magen- und Pankreasdrüsen als auch Schweißdrüsen. Seiner weiten Verbreitung zufolge kann das EMA in einer Vielzahl von adenoiden Karzinomen vorkommen. Dazu gehören maligne Tumoren der Verdauungsdrüsen (Speicheldrüsen, Magen, Colon), der Lunge und der Pleura und der ableitenden Harnwege (SOANE, ORMEROD 1981). In Knochenmark, Lymphsystem und in der Leber kommt EMA normalerweise nicht vor.

Der diagnostische Wert des EMA liegt primär nicht darin, eine Differenzierung im Tumorgewebe zu bestimmen.

Vielmehr kann aus dem Vorkommen des EMA in nicht-epithelialen Geweben, so vor allem in Knochenmark, Lymphknoten und Leber, auf eine stattgehabte Metastasierung eines Karzinoms geschlossen werden.

EMA kann cytologisch an Knochenmetastasen (DEARNLEY, SLOANE, ORMEROD 1981, 1982; TO, DEARNALAY, ORMEROD 1982; TO, COLEMAN, DEARNALEY 1981) und in routinemäßig fixierten Lymphknoten (REDDING, COOMBS et al. 1983) nachgewiesen werden. EMA dient hier vor allem der histologischen Erkennung auch weniger positiv reagierender Tumorzellen. Schon aus dem Vorhandensein nur weniger für das EMA positiv reagierender Zellen kann in Verbindung mit dem morphologischen Bild dieser Zellen eine Metastasierung verifiziert werden. Dies ist ein wichtiger Fortschritt bei der Diagnostik von kleinen Metastasen. Über den Wert des Nachweises nur einzelner EMA-positiver Zellen in Lymphknoten und Knochenmark und somit über das mögliche Vorhandensein eines Mikrokarzinoms gehen heute die Meinungen auseinander. DEARNALEY und ORMEROD (1983) aber haben in klinischen Studien festgestellt, daß Karzinom-Patientinnen, deren Zellen im Knochenmark auch nur vereinzelt mit dem EMA reagierten, signifikant häufiger und schneller Skelettmetastasen entwickeln, ein Sachverhalt, der auf eine latente Dissemination des Tumors hinweist.

In neueren Untersuchungen mit polyklonalen Antiseren gegen das EMA (HEYDERMAN, MCCARTHY 1984; SLOANE, ORMEROD et al. 1984) sind zwar Kreuzreaktionen mit Plasmazellen und Myelomzellen beschrieben worden, dies trat aber bei dem verwendeten monoklonalen Antikörper von DAKO (DAKO-EMA A613) nicht auf. Wohl aber sind von uns Kreuzreaktionen mit aktivierten Bindegewebszellen beobachtet worden. Vereinzelt konnten wir eine cytoplasmatische Reaktion der Histiozyten beschreiben, welche mit einer Phagozytose-tätigkeit und einem Persistieren der EMA-Determinante im Zelleib erklärt werden kann.

Schließlich ist der Wert des EMA bei der Differentialdiagnose von epithelialen Tumoren zu malignen Lymphomen von erheblicher diagnostischer Bedeutung. Dies kann vor allem zur Unterscheidung von kleinzelligen infiltrierenden lobulären Karzinomen und malignen Lymphomen angewendet werden.

Die immunhistochemische Anwendung des EMA stellt somit eine wesentliche Ergänzung der klassischen Tumordiagnostik dar. EMA dient zur Charakterisierung epithelialer Tumoren als auch zur Erkennung von Tumordinfiltraten und Metastasen in Histologie und Cytologie. In Verbindung mit der konventionellen Histologie und der konsequenten Anwendung der klassischen Kriterien der Malignität stellt die Anwendung des immunhistochemischen Nachweises von EMA in den genannten Fällen eine wichtige diagnostische Hilfe dar.

THOMSEN-FRIEDENREICH-ANTIGEN

Für das T-Ag ergibt sich an der normalen Brustdrüse eine apikale Verteilung vor allem in den terminalen duktulolobulären Übergängen. Auch in den Lobuli kann das T-Ag nachgewiesen werden. Bei einer Veränderung der Zellfunktion ist das T-Ag in einer anderen Verteilung vorhanden. Dies ist mit Störungen des Sekretionsmechanismus zu korrelieren, was sowohl bei der Mastopathie als auch im Karzinomgewebe, also bei gutartigen und bösartigen Veränderungen, der Fall ist. Dann ist das T-Ag auch im Cytoplasma nachzuweisen. Eine Regel, daß bei Vorhandensein des T-Ag im Primärtumor auch die Metastasen positiv für das T-Ag reagieren, kann nicht gefunden werden.

Im Unterschied zum Nachweis des EMA ist das Vorhandensein des T-Ag im Gewebe sehr wohl definiert. Während Antikörper gegen das EMA mit einer Vielzahl von Glycoproteinen in Zellmembranen mit einem Molekulargewicht von über M_r 200 000 reagieren, bindet das T-Ag nur mit

der antigenen Determinante beta-D-Gal(1-3)alpha-D-Gal-NAc. Die Darstellung des so definierten T-Ag im Gewebe muß daher als chemisch hoch-spezifisch angesehen werden.

Immunologisch handelt es sich bei dem T-Ag um einen Precursor der M- und N-Iso-Agglutinine. Bereits 1928 konnten THOMSEN und FRIEDENREICH das T-Ag auf Erythrozyten nachweisen. Dazu wurden gereinigte Erythrozyten in einer Bakteriensuspension von *Vibrio cholerae* inkubiert. Dies führte zu einer Demaskierung des T-Ag, so daß die Erythrozyten, gab man sie in das Serum zurück, durch das physiologischerweise vorkommende Anti-T-Ag agglutiniert werden konnten. Das Enzym, welches die Freisetzung des T-Ag bewirkt, ist die Neuraminidase. Dieses Phänomen wird heute als Thomsen-Friedenreich-Agglutination bezeichnet.

UHLENBRUCK und PROKOPP (1966) fanden, daß Lektine der Weinbergsschnecke (*Helix pomatia*) diese durch Neuraminidase freigesetzte antigene Determinante N-acetyl-D-Galactosamin spezifisch binden konnten. SPRINGER, DESAI et al. (1975) stellten schließlich die Hypothese auf, daß das T-Ag im Sinne etwa eines embryonalen Tumormarkers nur in maligne transformiertem Mamma-Gewebe vorkommt, während es im normalen Mamma-Gewebe nicht vorhanden sei. Dieser Ansicht ist in zahlreichen Untersuchungen widersprochen worden. NEWMAN, KLEIN, UHLENBRUCK et al. (1979) haben schließlich dargelegt, daß im Serum von Mamma-Karzinom-Patientinnen keine Veränderungen der Antikörpertiter gegen das T-Ag festzustellen sind.

Tierexperimentelle Untersuchungen mit Lektinen (KLEIN, VIERBUCHEN, UHLENBRUCK et al. 1979) haben ergeben, daß es bei Oestrogeneinfluß zu einer signifikanten Zunahme der Lektin-Bindungsstellen im Mamma-Gewebe der Ratte kommt. Dieser Effekt konnte durch den Oestrogen-Antagonisten Tamoxiphen gehemmt werden. In weiteren Arbeiten

wurde versucht, den Lektin-Rezeptor-Befund mit dem Erfolg einer endokrinen Therapie zu korrelieren. Tatsächlich war bei einem positiven Lektin-Befund in 83% ein Ansprechen auf eine Hormontherapie zu erkennen. In neueren Untersuchungen (BÖCKER, KLAUBER, BAHNSEN et al. 1984) wird allerdings bezweifelt, daß bei positivem Lektin-Rezeptor-Befund auch Oestrogen- und Progesteronrezeptoren gefunden werden.

STEGNER, FISCHER und POSCHMANN (1981) haben die Lektin-Histochemie mit der immunhistochemischen Lokalisation des T-Ag verglichen. Für beide Methoden ergeben sich demnach identische Verteilungsmuster, immunhistochemische Verfahren sind aber spezifischer und sensibler. Die Ergebnisse stimmen mit unseren Erkenntnissen überein. Im normalen Mamma-Gewebe findet eine apikale Bindung in den Epithelzellen statt, kommt es zu Veränderungen, die eine Störung des Sekretionsmechanismus vermuten lassen, dann kann das T-Ag im gesamten Cytoplasma der Zellen nachgewiesen werden. Dies gilt für maligne wie für benigne Veränderungen.

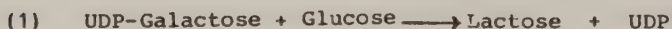
Offenbar handelt es sich bei dem T-Ag um Zwischenprodukte eines durch Hormonwirkungen modulierten Glycoprotein-Stoffwechsels. Der Nachweis dieser Zucker im Gewebe und in Metastasen erlaubt wichtige Rückschlüsse auf die Zellfunktion. Apikale Bindung bedeutet Sekretionsbereitschaft, luminale Bindung "aktive Sekretion", eine cytoplasmatische "gerichtete oder vakuoläre Bindung" (Mastopathie sowie Karzinom) zeigt offenbar einen gestörten Sekretionsmechanismus an.

ALPHA-LACTALBUMIN

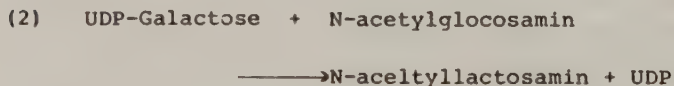
Das ALA ist am normal funktionsfähigen Brustdrüsengewebe nur sehr inhomogen nachweisbar. Teilweise gelingt die Darstellung in den luminalen Epithelzellen. An der laktierenden Mamma ist das ALA im Cytoplasma sowohl der

Gangepithelien als auch in den Azinuszellen nachweisbar. Auch im Tumorgewebe ist ALA nur sehr unregelmäßig vorhanden. Aus dem Vorkommen des ALA im Tumorgewebe kann nicht auf dessen biologisches Verhalten geschlossen werden.

Struktur und Funktion des ALA sind erforscht. Es handelt sich um ein Glycoprotein, welches von funktionell differenzierten Drüsenepithelzellen der Mamma synthetisiert wird; daher kann es auch aus den Sekretionsprodukten, der Milch und dem Kolostrum, isoliert werden (KULSKY, SMITH, HARTMAN 1977). ALA ist ein Glycoprotein, dessen Aminosäuresequenz bekannt ist (FINDLEY, BREW 1972), das Molekulargewicht liegt bei M_r 120 000. Es funktioniert in seiner Eigenschaft als Untereinheit der Lactose-Synthetase, welches aus UDP-aktivierter Galactose und Glucose Lactose synthetisiert:



Ohne die Gegenwart von ALA katalysiert die Galactosyl-Transferase die Verbindung von N-acetylglucosamin oder einer A-acetyl-Einheit auf das Oligosaccharid-Ende eines Glykoproteins:



Die Galactosyltransferase wird vor allem in der Brustdrüse gefunden, kann aber auch aus anderen Gewebearten isoliert werden. ALA wirkt als "Specifier"-Protein, d. h. es verändert die Substratspezifität des Enzyms und reguliert somit die organspezifische Reaktion der Lactose-Synthetase.

Der Nachweis des ALA ist hoch spezifisch für die Brustdrüse. Der verwendete polyklonale Antikörper von DAKO (DAKO A579) zeigt nach Praeabsorption keine Kreuzreaktion

mit Serumproteinen und muß daher als hoch avide für die antigene Struktur angesehen werden.

ALA kann sowohl in den Sekretionsprodukten der Mamma, also Kolostrum und Milch, im Serum und im Gewebe selbst dargestellt werden.

Perinatale Messungen haben ergeben, daß postnatal die Serumwerte für ALA abfallen und für Lactose ansteigen (KULSKY, SMITH 1977). Vergleichende Studien zwischen Karzinom-Trägerinnen und normalen Versuchspersonen haben ergeben, daß keine signifikanten Serumspiegel-Unterschiede für ALA vorhanden sind (SCHULTZ, EBNER 1977).

Auch in der Zellkultur kann ALA nachgewiesen werden, doch gilt dies nicht für alle Zelllinien. Dies bedeutet, daß bei maligner Entartung die Fähigkeit zur Synthese von ALA verloren gehen kann (MORI, TSUBURA et al. 1983). Versuche, das Vorkommen von ALA mit einem Prolaktin- oder Steroidhormoneinfluß zu korrelieren, dürfen als gescheitert angesehen werden. ROSE (1975) berichtet über Zellkulturen, die ohne Prolaktin ALA synthetisieren, KLEINBERG (1977) schreibt in zwei von 19 Fällen über einen möglichen Prolaktin-Einfluß. WOODS (1977) stellte die These auf, daß ALA ein post-Rezeptor-Marker für eine Oestrogen-Abhängigkeit sei, dem sind BUSSOLATI et al. (1977) entgegengetreten.

Aus der Gruppe der in der Mamma-Pathologie anwendbaren immunhistochemischen Marker sind drei antigene Determinanten von unterschiedlicher Spezifität ausgewählt worden. Der Erfassung intrazellulärer Milchproteine dient der Nachweis von Lactalbumin, der Erkennung anderer Sekretionsprodukte und von Membranbestandteilen das Epitheliale-Membran-Antigen sowie das Thomsen-Friedenreich-Antigen, gleichsam als Lektin-Äquivalent. Der positiver Ausfall dieser Reaktionen hängt - von methodischen Gegebenheiten abgesehen - bei ALA und T-Ag weitgehend vom zellphysiologischen und zellpathologischen Funktionsgrad ab, so daß es nicht verwundert,

wenn mit zunehmender Entdifferenzierung Karzinome diese Determinanten nicht oder nur herdförmig, das heißt in Form klonaler Differenzierung, im Tumor reagieren. Dagegen stellt das EMA einen sehr nützlichen, gewissermaßen "Breitband"-Marker dar, mit dessen Hilfe auch Einzelzellen bei Metastasierungen und Gruppenmerkmale zum Beweis oder Ausschluß epithelialer oder mesenchymaler Tumoren erkannt werden können. Daher ist seine Anwendung in der Mamma-Pathologie von großer Bedeutung, wenn es darum geht, Karzinosarkome, Sarkome oder spindelzellig-differenzierte, metaplastische Karzinome zu differenzieren.

Da der Nachweis eines Markers nur die Bedeutung eines Symptoms hat, das zweifellos eine diagnostische Hilfe sein kann, wurden in dieser Arbeit drei Marker angewendet, um mehrere pathophysiologische Eigenschaften der Tumorzellen in der Mamma zu erkennen. Dabei ergeben die vergleichenden Untersuchungen (Tabelle 6-11) bemerkenswerte Einblicke in das immunhistochemische Verhalten der Karzinome, besonders im Vergleich der duktaalen und lobulären Karzinome in situ und deren Invasionsformen. Es konnte übereinstimmend eine Verminderung oder ein Verlust der positiven Reaktion auf ALA und T-Ag festgestellt werden. Hierin erblicken wir den immunhistochemischen Ausdruck der Entdifferenzierung der Tumorzellen.

Die im Laufe der Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen besagen, daß die Immunhistochemie eine wichtige diagnostische Hilfe ist, wenn die Untersuchungen sorgfältig und unter konstanten Bedingungen durchgeführt werden und die Bewertung der Ergebnisse mit Kritik erfolgt, und zwar im Hinblick auf die stets erforderlichen Kontrolluntersuchungen, aber auch im Hinblick auf das histologische Substrat.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

An 25 Gewebeseinsendungen, die dem Pathologischen Institut der Städtischen Kliniken Fulda in den Jahren 1984 und 1985 zugegangen sind, sind immunhistochemische Untersuchungen am weiblichen Brustdrüsengewebe durchgeführt worden. Dabei handelt es sich in 12 Fällen um Mamma-Gewebe ohne histo-pathologische Veränderungen; in 19 Fällen lag eine gutartige Erkrankung vor, ein Karzinom wurde in 45 Fällen festgestellt. Weiterhin sind 18 Metastasen immunhistochemisch untersucht worden.

Über eine indirekte Immunperoxidase-Technik bzw. die Peroxidase-Antiperoxidase-Methode sind die Gewebemarkers Epitheliales-Membran-Antigen (EMA), Thomsen-Friedenreich-Antigen (T-Ag) und alpha-Lactalbumin (ALA) im histologischen Präparat nachgewiesen worden. EMA dient der Erkennung von Membranstrukturen, es kommt als Glykoprotein in Membranen ektodermaler Organe vor. Das T-Ag wird als Intermediärprodukt einer durch Oestrogene und Gestagene modulierten Stoffwechselkette angesehen, sein immunhistochemischer Nachweis korreliert mit dem Vorhandensein eines intrazellulären Hormonrezeptors. Der Erfassung von Milchproteinen dient das ALA, welches als Untereinheit der Lactose-Synthetase einen Indikator für die aktive Sekretionsleistung des Organs darstellt.

Durch den immunhistochemischen Nachweis der drei genannten Marker sollen unterschiedliche zellphysiologische und zellpathologische Eigenschaften erfaßt werden, um einen Einblick in die Veränderungen bei gutartigen und bösartigen Erkrankungen zu erlangen.

Ausgehend vom immunhistochemischen Befund am normalen Mamma-Gewebe stellt sich bei Vorliegen einer gutartigen Erkrankung aus dem Formenkreis der Mastopathie eine Änderung der Topochemie dar, so daß die Epithelzellen zunehmend positiv für die Sekretionsmarker

T-Ag und ALA werden, was einer vermehrten Produktion und/oder Retention des Zellproduktes im Cytoplasma entspricht.

Bei malignen Tumoren können mit zunehmender Entdifferenzierung die Marker ALA und T-Ag nicht mehr festgestellt werden, während das EMA als "Breitband"-Marker auch bei entdifferenzierten Tumoren positiv reagiert und sich damit als Indikator bei der Metastasensuche anbietet.

Von großer differentialdiagnostischer Relevanz ist die Anwendung der beschriebenen Marker bei der Diagnose okkultes Mamma-Karzinome. Dabei handelt es sich um sehr kleine, mit klinischen Methoden nicht nachweisbare Primärtumoren, welche schon frühzeitig Metastasen bilden. Durch immunhistochemische Musteranalyse dieser Metastasen kann die histo-pathologische Diagnose wesentlich sicherer gestellt werden.

Auch bei der Differentialdiagnose kleinzelliger Tumoren der Mamma sind die Marker von Nutzen, so kann mit deren Hilfe die Differentialdiagnose von invasiven lobulären Karzinomen, Sarkomen oder Lymphomen gesichert werden.

Die immunhistochemische Anwendung der Tumormarker EMA, T-Ag und ALA stellt eine wesentliche Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten in der Pathologie dar, weil mit ihrer Hilfe die Treffsicherheit und die Möglichkeit der Charakterisierung von Tumorzellen wesentlich verbessert werden.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

AZZOPARDI JC (1979)

Problems in breast pathology

WB Saunders Comp London, Philadelphia, Toronto

BAHU RM, MANGKORNKANOH-MARK M, ALBERTSON D, FORS E, MOLteni A,
BATTIFORA H (1980)

Detection of alpha-lactalbumin in breast lesions and relation-
ship to estrogen receptors and serum prolactin

Cancer 46, 1775-1780

BAILEY AJ, SLOANE JP, TRICKEY BS, ORMEROD MG (1982)

An immunocytochemical study of alpha-lactalbumin in human
breast tissue

J Pathol 137, 13-23

BÄSSLER R (1978)

Pathologie der Brustdrüse

in: Spezielle pathologische Anatomie, Band 11

(Eds) DOERR W, SEIFERT G, UEHLINGER E

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

BÄSSLER R, DITTMANN AM, DITTRICH M (1981)

Mononuclear stromal reactions in mammary carcinoma, with a
lymphoid infiltrate - analysis of 108 cases

Virchows Arch path Anat 393, 75-91

BÖCKER W, KLAUBERT A, BAHNSEN J, SCHWEIKHART G, FOLLOW K, MITZE M,
KREIENBERG R, BECK T, STEGNER HE (1984)

Peanut lectin histochemistry of 120 mammary carcinomas and its
relation to tumor type, grading, staging, and receptor status

Path Anat Histopath 403, No 2, 149-161

VAN BOGAERT LJ, MALDIGNE P (1980)

Infiltrating lobular carcinoma of the female breast

Cancer 45, 979-984

BOURNE JA (1983)

Handbook of immunoperoxidase staining methods

DAKO-Corporation, Immunohistochemistry Laboratory,

Santa Barbara, California

BUSSOLATI G, GHIRINGHELLO B, DI CARLO F, AIMONE V,
VOGLINO GF (1977)

Lactalbumin synthesis in breast-cancer tissue
(Letter to the editor)
Lancet 2, 352

BUSSOLATI G, GUGLIOTTA P, FULCHERI E (1984)

Immunohistochemistry of actin in normal and neoplastic tissues
in: Advances in immunohistochemistry,
(Eds) DeLELLIES R A
Masson Publishing USA

BUSSOLATI G, PICH A (1975)

Mammary and extramammary Paget's disease
Am J Path 80, 117-124

CLAYTON F, ORDÓÑEZ NG, HANSSSEN GM, HANSSSEN H (1982)

Immunoperoxidase localization of lactalbumin in malignant
breast neoplasms
Arch Pathol Lab Med 106, 268-270

COONS AH, CREECH HJ, JONES RN (1941)

Immunological properties of an antibody containing a
fluorescent group
Proc Soc Exp Biol Med 47, 200-202

COVE DH, SMITH SCH, WALKER R, HOWELL A (1978)

The synthesis of the glycoprotein hormone alpha-subunit by
human breast carcinomas
Eur J Cancer 15, 693-702

COVE DH, WOODS KL, SMITH SCH, BURNETT D, LEONARD J, GRIEVE RJ,
HOWELL A (1979)

Tumor markers in breast cancer
Brit J Cancer 40, 710-718

DEARNALEY DP, SLOANE JP, ORMEROD MG, STEELE K, COOMBES RC,
CLINK HMc, POWLES TJ, FORD HT, Gazet JC, NEVILLE AM (1981)

Increased detection of mammary carcinoma cells in marrow
smears using antisera to Epithelial Membrane Antigen
Brit J Cancer 44, 85-90

DeLELLIS RA (1984)

Advances in immunohistochemistry

WB Saunders Comp London, Philadelphia, Toronto

DeLELLIS RA, STERNBERGER LA, MANN RB, BANKS PM, NAKANE PK
(1979)

Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology -

Report of a workshop, sponsored by the National Cancer Institute

Am J Clin Pathol 71, 483-488

DEARNLEY DP, ORMEROD MG, SLOANE JP, LUMLEY H, IMRIE S, JONES M,
COOMBES RC, NEVILLE AM (1983)

Detection of isolated mammary carcinoma cells in marrow of
patients with primary breast cancer

J Roy Soc Med 76, 359-364

FINDLAY JB, BREW K (1972)

The complete amino-acid sequence of human alpha-lactalbumin

Eur J Biochem 27, 65-86

FITZGERALD DK, BRODBECK V, KIYOSAWA I, MARVAL R, CALVIN B,
EBNER KE (1970)

Alpha-lactalbumin and the lactose synthetase reaction

J Biol Chem 245, 2103-2108

FOSTER CS, DINSDALE EA, EDWARDS PAW, NEVILLE AM (1982)

Monoclonal antibodies to the human mammary gland -

II. Distribution of determinants in breast cancer

Virchows Arch path Anat 394, 295-305

FRANKLIN WA (1983)

Tissue binding of lectins in disorders of the breast

Cancer 51, 295-300

FRIEDENREICH V (1928)

Investigations into the Thomsen hemagglutination phenomena

Acta pathol microbiol scand 5, 69-101

GUGLIOTTA P, BOTTA G, BUSSOLATI G (1981)

Immunocytochemical detection of tumour markers in bone metastases
from carcinoma of the breast

Histochem J 13, 953-959

GUSTERSON BA, LUCAS RB, ORMEROD MG (1982)

Distribution of Epithelial Membrane Antigen in benign and malignant lesions of the salivary glands

Virchows Arch path Anat 397, 227-233

HAAGENSEN CD (1971)

Diseases of the breast

2nd ed, Saunders Comp, Philadelphia, London, Toronto

HAAGENSEN CD, LANE N, LATTES R, BODIAN C (1978)

Lobular neoplasia (so called carcinoma in situ) of the breast

Cancer 42, 737-769

HALL L, CRAIG K, DAVIES MS, RALPHS DNL, CAMPBELL PN (1981)

Alpha-lactalbumin is not a marker of human hormone-dependent breast cancer

Nature 290, 602-604

HARRIS M, WELLS S, VASUDEV KS (1978)

Primary signet ring cell carcinoma of the breast

Histopathology 2, 171-176

HEYDERMAN E, STEELE K, ORMEROD MG (1979)

A new antigen on the epithelial membrane: its immunoperoxidase localisation in normal and neoplastic tissue

J Clin Path 32, 35-39

HEYDERMAN E (1979)

Immunoperoxidase technique in histopathology: applications, methods, and controls

J Clin Path 32, 971-978

HORAN-HAND P, NUTI M, COLCHER D, SCHLOM J (1983)

Definition of antigenetic heterogeneity and modulation among human mammary carcinoma cell populations using monoclonal antibodies to tumor-associated antigens

Cancer Res 43, 728-735

KIAER HW, KIAER WW, LINELL FF, JACOBSEN S (1979)

Extreme duct papillomatosis of the juvenile breast

Acta pathol microbiol scand Sect A 87, 353-359

KLEINBERG DL (1975)

Human alpha-lactalbumin: measurment in serum and in breast cancer organ cultures by radioimmunoassay
Science 190, 276-278

KLEINBERG DL, TODD J (1978)

Alpha-lactalbumin in human and subhuman primate normal mammary tissue and in human breast cancer as a marker for prolactin activity
Cancer Res 38, 4318-4322

KLEIN PJ, NEWMAN RA, MÜLLER P, UHLENBRUCK G, CITOLER P, SCHAEFER HE, LENNARTZ KJ, FISCHER R (1979)

The presence and significance of the Thomsen-Friedenreich-Antigen im mammary gland -

II. Its topochemistry in normal, hyperplastic and carcinoma tissue of the breast

J Cancer Res Clin Oncol 93, 205-214

KLEIN PJ, VIERBUCHEN M, SCHULZ KD, WÜRZ H, CITOLER P, UHLENBRUCK G, ORIMANN M, FISCHER R (1981)

Hormonabhängige Lektin-Bindungsstellen -

II. Lektin-Rezeptoren als Indikator einer Hormonsensibilität von Mammakarzinomen

Tumor Diagnostik 2, 240-245

KRIEGER W, PICKARTZ H, BROTHERTON J, ADAMCZEWSKA K (1983)

Histomorphologie des Mammakarzinoms und Steroidhormonrezeptorgehalt
Pathologie 4, 281-286

KUHAJDA FP, MENDELSON G (1982)

Carcinoembryonic antigen and alpha-lactalbumin in breast carcinoma: an immunohistochemical study

Lab Invest 46, 46

KULSKY JK, SMITH M, HARTMANN PE (1977)

Perinatal concentrations of progesterone, lactose and alpha-lactalbumin in the mammary secretion of women

J Endocrinol 74, 509-510

LEE AK, DeLELLIS D, ROSEN P, HERBERT-STANTON T, TALLBERG K,
GARCIA C, WOLFE HJ (1984)

Alpha-lactalbumin as an immunohistochemical marker for metastatic
breast carcinomas

Am J Surg Pathol 8, 93-100

LEE AK, ROSEN P, DeLELLIS RA, STANTON TH, TALLBERG K, WOLFE HJ (1983)

Alpha-lactalbumin as a mammary epithelial marker in metastatic
breast carcinomas

Lab invest 48, 49-50

LLOYD RV, FOLEY J, JUDD WJ (1984)

Peanut lectin agglutination and alpha-lactalbumin

Arch Pathol Lab Med 108, 392-395

LOTAN R, SKUTELSKY E, DANON D, SHARON N (1975)

The purification, composition, and specificity of the anti-T-lectin
from peanut (Archis hypogaea)

J Biol Chem 250, 8518-8523

LOUIS CJ, SZTYNDA T, CHENG ZM, WYLLIE RG (1983)

Lectin-binding affinities of human breast tumors

Cancer 52, 1244-1250

MASON TE, PHIFER RF, SPICER SS, SWALLOW RA, DRESKIN RB (1969)

An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens

J Histochem Cytochem 17, 563-569

MORII S, TSUBURA A, KOMAI Y, SHIKATA N, IZUMI H (1983)

Immunohistochemical localizations of alpha-lactalbumin in human
breast lesions in relation to secretory activity

Acta histochem cytochem 16, 502-512

MO KINZIE L, FITZGERALD DK, EBNER KE (1971)

Lactose synthetase activities in rat and mouse mammary glands

Biochem Biophys Acta 230, 526-530

NAKANE PK (1968)

Simultaneous localisation of multiple tissue antigens using the
peroxidase-labelled antibody method: a study on pituitary glands
of the rat

J Histochem Cytochem 16, 557-560

NAKANE PK, PIERCE GB Jr. (1966)

Enzyme-labelled antibodies: preparation and application for
localization of antigen

J Histochem Cytochem 14, 929-931

NEWMAN RA, KLEIN PJ, RUDLAND PS (1979)

Binding of peanut lectin to breast epithelium, human carcinomas,
and a cultured rat mammary stem cell: use of the lectin as a
marker of mammary differentiation

J Natl Cancer Inst 63, 1339-1345

NEWMAN RA, KLEIN PJ, UHLENBRUCK G, CITOLER P, KARDUCK D, (1979)

The presence and significance of the Thomsen-Friedenreich-Antigen
in breast cancer -

I. Serological studies

J Cancer Res Clin Oncol 93, 181-188

OBERMANN HA (1980)

Secretory carcinoma of the breast in adults

Am J Surg Pathol 4, 465-470

ORMEROD MG, NONGAUN P, EASTY D, EASTY GC (1981)

Asymmetrical distribution of Epithelial-Membrane-Antigen in the
plasma membranes of human breast cell lines in culture

Diagnostic Histopath 4, 89-93

PAPOTTI M, EUSEBI V, GUGLIOTTA P, BUSSOLATI G (1983)

Immunohistochemical analysis of benign and malignant papillary
lesions of the breast

Am J Surg Pathol 7, 451-461

PHILLIPS NJ, JENNESS R (1971)

Isolation and properties of human alpha-lactalbumin

Biochem Biophys Acta 229, 407-410

POLAK JM, NOORDEN S v (1983)

Immunocytochemistry

Wright Bristol, London, Paris

PRECHTEL K (1980)

Prospektive Untersuchungen über die Mastopathie und das Fibroadenom
der Mamma

in: Brustkrebsfrüherkennung

(Eds) GRUNDMANN E, BECK L

Fischer Stuttgart, New York

REDDING WH, COOMES RC (1983)

Detection of micrometastases in Patients with primary breast cancer
Lancet 2, 1271-1274

RIDOLFI RL, ROSEN PP, POST A, KINNE D, MEKÉ Y (1977)

Medullary carcinoma of the breast. A clinicopathologic study with
10 year follow up
Cancer 40, 1365-1385

ROBINSON G (1982)

Immunohistochemistry
in: Theory and practice of histological techniques
(Eds) BANCROFT JD, STEVENS A
Churchill Livingstone Edinburgh, Melbourne, New York

ROSE HN, McGRATH CM (1975)

Alpha-lactalbumin production in human mammary carcinoma
Science 196, 673-675

ROSEN PP, CANTRELL B, MULLER DL, DePALO A (1980)

Juvenile papillomatosis (swiss cheese disease) of the breast
Am J Surg Path 4, 3-12

SAIGO PE, ROSEN PP (1981)

Mammary carcinoma with "choriocarcinomatous" features
Am J Surg Path 5, 773-778

SCHULTZ GS, EBNER KE (1977)

Alpha-lactalbumin levels in human mammary tumors, sera and mammary
cell culture lines
Cancer Res 37, 4489-4492

SLOANE JP, ORMEROD MG, IMRIE SF, COOMES RC (1980)

The use of antisera to epithelial membrane antigen in detecting
micrometastases in histological sections
Brit J Cancer 42, 392-398

SLOANE JP, ORMEROD MG (1981)

Distribution of Epithelial-Membrane-Antigen in normal and neoplastic
tissues and its value in diagnostic tumor pathology
Cancer 47, 1986-1995

SPRINGER GF, DESAI PR, BANATWALA I (1975)

Blood group MN-antigens and precursors in normal and malignant human breast glandular tissue (brief communication)

J Natl Cancer Inst 54, 335-339

STEINBECHER JS, SILVERBERG SG (1976)

Signet-ring cell carcinoma of the breast

Cancer 37, 828-840

STEGNER HE, FISCHER K, POSCHMANN A (1981)

Immunohistochemical localisation of Thomsen-Friedenreich-Antigen in normal and malignant breast tissue using peroxidase-antiperoxidase-technique

Tumor Diagnostik 3, 127-130

STERNBERGER LA (1979)

Immunocytochemistry

2nd Ed John Wiley & Sons

STERNBERGER LA, HARDY PH Jr., CUCULIS JJ, MEYER HG (1970)

The unlabelled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in the identification of spirochetes

J Histochem Cytochem 18, 315-333

STERNBERGER LA (1969)

Some new developments in immunocytochemistry

Mikroskopie 25, 346-361

TAVASSOLI FA, NORRIS HJ (1980)

Secretory carcinoma of the breast

Cancer 45, 2404-2413

TO A, COLEMAN DV, DEANALEY DP, ORMEROD MG, STEELE K, NEVILLE AM (1981)

Use of antisera to Epithelial-Membrane-Antigen for the cytodiagnosis of malignancy serous effusions

J Clin Pathol 34, 1326-1332

TO A, DEANALEY DP, ORMEROD MG, CANTI G, COLEMAN DV (1982)

Epithelial-Membrane-Antigen: its use in the cytodiagnosis of malignancy in serous effusions

Am J Clin Patho 78, 214-219

UHLENBRUCK G, PROKOP O (1966)

An agglutinin from *Helix pomatia*, which reacts with terminal
N-acetyl-D-galactosamine
Vox sang 11, 519-520

VANSTAPEL MJ, GATTER KC, De WOLF-PEETERS C, MILLARD PR, DESMET VJ (1984)

Immunohistochemical study of mammary and extra-mammary Paget's
disease
Histopathology 8, 1013-1023

VIERBUCHEN M, KLEIN PJ, UHLENBRUCK G, FISCHER R (1981)

Hormonabhängige Lektin-Bindungsstellen
II. Histochemischer Nachweis von Lektin-Bindungsstellen und ihre
hormonelle Steuerung im Brustdrüsengewebe der Ratte
Tumor Diagnostik 2. 235-239

WALKER RA (1978)

The demonstration of alpha-lactalbumin in human breast carcinomas
J Path 129, 37-42

WALKER RA (1982)

Biological markers in human breast carcinoma
J Path 137, 109-117

WALKER RA (1984)

Immunohistochemistry of biological markers of breast carcinoma
in: Advances in immunohistochemistry
(Ed) DeLELLIS RA
Masson Publishing USA

WOODS KL, COVE DH, HOWELL A (1977)

Predictive classification of human breast carcinomas based on
lactalbumin synthesis
Lancet 2, 14

WOODS KL, COVE DH, MORRISON JM, HEATH DA (1979)

The investigation of lactalbumin as a possible marker for human
breast cancer
Eur J Cancer 15, 47-51

VIII. LEBENS LAUF

Am 23. Juni 1959 wurde ich als Sohn des Chemiefachwerkers Matthias Schmitz und seiner Ehefrau Ottilie, geb. Moschall, in Dormagen am Rhein geboren.

Im April 1966 wurde ich in die katholische Friedrich-Steinberger Schule in Dormagen-Rheinfeld eingeschult, von wo aus ich im August 1969 auf das Städtische Gymnasium in Dormagen überwechselte. Dort erlangte ich am 6. Juni 1978 die allgemeine Hochschulreife.

Vom 1. Juli 1978 bis 12. April 1979 leistete ich Wehrdienst als Fallschirmjäger in Iserlohn.

Im Sommersemester 1979 begann ich das Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz. Im März 1981 legte ich die Ärztliche Vorprüfung ab, im März 1982 den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Nach Ablegen des Zweiten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung im März 1984 wechselte ich von Mainz an die Städtischen Kliniken in Fulda (Akademisches Lehrkrankenhaus der Philipps-Universität Marburg) über, wo ich das Praktische Jahr ableistete. Am 23. April 1985 legte ich in Fulda den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab.

Die Approbation als Arzt wurde mir am 7. Mai 1985 durch den Regierungspräsidenten in Gießen erteilt.

Seit diesem Zeitpunkt bin ich als Assistenzarzt am Pathologischen Institut der Städtischen Kliniken Fulda (Chefarzt: Prof. Dr. med. R. Bässler) tätig.

Herrn Prof. Dr. med. R. Bässler danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für die Unterstützung und Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. W. Thoenes sage ich meinen Dank für die freundliche Übernahme des zweiten Gutachtens.

Mein Dank gilt auch allen Kollegen und Mitarbeitern des Pathologischen Institutes der Städtischen Kliniken Fulda für die freundliche Aufnahme und Unterstützung bei dieser Arbeit.

Für ihre wertvolle Hilfe bei der zügigen Fertigstellung der Arbeit möchte ich Frau Barbara Peterson von der Krankenpflegeschule der Städtischen Kliniken Fulda sehr herzlich danken.

Druck und Bindung: PRETTY PRINT Dipl.Ing. Weber & Klein, Mainz